АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXIII. ВЫП. 4

ИЮЛЬ—АВГУСТ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1954

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
8 NOV 1954

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров,
В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, УЛ. КУЙБЫШЕВА, 8. КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:

Москва, Подсосенский пер., 21, Издательство Академии наук СССР,

редакция журнала «Микробиология»

БЕСКЛЕТОЧНАЯ НИТРИФИКАЦИЯ

II. ОКИСЛЕНИЕ АММИАКА АВТОЛИЗАТАМИ КЛЕТОК NITROSOMONAS

А. А. Имшенецкий и *Е. Л. Рубан*

О существовании ферментных систем, участвующих в процессе нитрификации, ничего не известно. Выделению и изучению этих ферментов должны предшествовать исследования, доказывающие возможность окисления аммиака без участия клеток Nitrosomonas. Положительные результаты позволили бы перейти к изучению химизма процесса нитрификации. Для проведения опытов по бесклеточной нитрификации необходимо было располагать большим количеством клеток нитрификаторов. В нашем предыдущем сообщении [1] подробно описывалась методика выращивания значительных количеств клеток Nitrosomonas и получения из них автолизатов, свободных от бактериальных клеток. Применение этой методики дало возможность приготовить активные автолизаты и провести с ними первый цикл исследований. Их описание и составляет содержание этой статьи.

Экспериментальная часть

Уменьшение количества аммиака в автолизатах, полученных из клеток Nitrosomonas

Автолизат делился на две порции. В одной из них определялся аммиак и нитриты непосредственно после автолиза, другая порция выдерживалась в течение пяти дней и затем в ней также производилось определение аммика, нитритов и pH, который обычно был равен 7,2—7,3. Сопоставление цифр, полученных в опыте и контроле, позволяло сделать вывод о происходящих изменениях. Первые же определения выяснили, что аммиак в автолизатах содержится в значительных количествах (доходящих до 108,8 мг/л). Поэтому к автолизатам вначале не добавлялся сернокислый аммоний, а выяснялся вопрос, в какой степени происходит окисление ферментами Nitrosomonas аммиака, уже содержащегося в автолизатах. Определение нитритов в опыте и контроле позволяло судить о количестве нитритов, образующихся при одновременно идущем окислении аммиака. Каждое определение производилось в двух параллельных пробах, в общей сложности проведено 15 опытов, т. е. сделано 30 определений. Результаты этих опытов приведены в табл. 1.

Эти данные могут быть резюмированы следующим образом.

1. В фильтратах автолизатов количество нитритов в течение пяти дней возрастает в среднем с 0,94 до 1,48 мг N_2 на литр.

2. Содержание аммиака в автолизатах резко падает — с 26,4 до 7,4 мг азота на литр, т. е. больше чем в три с половиной раза.

3. Нитритов образуется значительно меньше, чем окисляется аммиака.

Таковы основные выводы. Остановимся на некоторых деталях. Обращает на себя внимание, что начальное содержание аммиака в автолизатах сильно варьирует — от 0,9 до 108,8 мг на литр. Это, повидимому, объясняется рядом причин: степенью автолиза клеток Nitrosomonas, исходным содержанием аммиака в клетке, условиями развития культуры и т. д.

Таблица 1

Опыты с фильтратами автолизатов клеток Nitrosomonas без прибавления $(NH_4)_2SO_4$

(Все цифры даны в миллиграммах на литр. Продолжительность опыта 5 суток)

№ опыта	Количество NH_3				Количество NO_2				Уменьшилось NH_3	Образовалось NO_2
	начальное		конечное		начальное		конечное			
	NH_3	N_2	NH_3	N_2	NO_2	N_2	NO_2	N_2	в мг N_2	
1	38,0	31,3	35,0	28,8	4,0	1,2	8,8	2,7	2,5	1,5
2	25,0	20,6	14,7	12,1	0,2	0,06	0,3	0,1	1,5	0,04
3	3,0	2,5	0,1	0,1	0,7	0,23	2,5	0,8	2,4	0,57
4	16,2	13,3	10,0	8,0	1,1	0,3	2,0	0,6	5,3	0,3
5	17,6	14,5	10,0	8,0	1,1	0,3	2,3	0,7	6,5	0,4
6	28,0	23,0	0,2	0,1	0,7	0,23	0,8	0,26	22,9	0,03
7	28,0	23,0	0,2	0,1	0,9	0,3	1,1	0,36	22,9	0,06
8	3,7	3,0	2,0	1,5	8,3	2,5	12,5	3,8	1,5	1,3
9	45,2	37,2	26,6	21,9	0,7	0,2	1,1	0,3	15,3	0,1
10	0,9	0,7	0,12	0,1	4,3	1,3	5,6	1,8	0,6	0,5
11	54,9	45,2	32,3	26,6	2,3	0,7	3,6	1,1	18,6	0,4
12	51,9	42,7	0,12	0,1	0,6	0,2	4,5	1,5	42,6	1,3
13	1,1	0,9	0,9	0,8	1,9	0,6	5,9	1,6	0,1	1,0
14	108,8	89,6	4,0	3,3	9,8	3,0	10,7	3,3	86,3	0,3
15	61,6	48,4	0,035	0,03	9,8	3,0	10,7	3,3	48,37	0,3
Среднее	32,3	26,39	9,05	7,43	3,09	0,94	4,82	1,48	18,49	0,54

Однако во всех 15 опытах наблюдалось закономерное уменьшение аммиака; нет ни одного опыта, в котором конечное количество аммиака увеличилось бы по сравнению с контролем или осталось тем же. Интенсивность самого окисления аммиака в различных опытах неодинакова. Иногда почти весь аммиак окисляется полностью. Такую картину мы наблюдаем в опытах № 3, 6, 7, 12, 15. Мы вправе говорить о полном окислении аммиака в некоторых из этих опытов. Так, например, в опыте № 12 исходное количество аммиака снизилось с 51,9 до 0,12 мг/л, соответственно в опыте № 15—с 61,6 до 0,035 мг/л. В ряде других опытов окисление аммиака было значительно менее интенсивным.

Во второй серии опытов к фильтрату автолизата добавлялся раствор сернокислого аммония с таким расчетом, чтобы дополнительно было внесено в автолизат 20 мг/л аммиака (опыт № 1, 2, 3) или 10 мг/л аммиака (опыты № 4, 5). Данные, полученные в этих опытах, приведены в табл. 2.

Таблица 2

Опыты с фильтратами автолизатов клеток Nitrosomonas с добавлением $(NH_4)_2SO_4$

(Все цифры даны в миллиграммах на литр; продолжительность опытов 5 суток)

№ опыта	Добавлено NH_3	Количество NH_3				Количество NH_3				Уменьшилось NH_3	Образовалось NO_2
		начальное		конечное		начальное		конечное			
		NH_3	N_2	NH_3	N_2	NO_2	N_2	NO_2	N_2	в мг N_2	
1	20	58,0	47,7	51,1	46,2	1,1	0,33	2,6	0,8	1,50	0,47
2	20	36,2	29,8	16,0	13,2	1,1	0,33	2,5	0,78	1,66	0,45
3	20	52,7	49,3	34,0	28,0	0,7	0,21	2,1	0,64	11,3	0,43
4	10	44,9	36,9	39,0	28,8	1,0	0,30	1,2	0,37	1,9	0,07
5	10	31,0	25,5	17,0	14,0	1,3	0,40	4,3	1,30	11,5	0,9
Среднее		44,5	37,8	31,4	26,04	1,04	0,31	2,54	0,77	5,57	0,46

Эти исследования могут быть резюмированы следующим образом.

1. При дополнительном внесении аммиака в автолизатах также постоянно наблюдается уменьшение количества аммиака.

2. В этих опытах окисление протекает менее интенсивно, чем в опытах без дополнительного внесения аммиака, что, повидимому, объясняется более высоким исходным содержанием аммиака, которое в свою очередь зависит от суммирования количества аммиака, содержащегося в автолизате и дополнительно внесенного в автолизат с сернокислым аммонием.

3. Окисление аммиака сопровождается увеличением количества нитритов, последнее возрастает приблизительно в два с половиной раза.

Таким образом, в двух сериях опытов в автолизатах закономерно происходило уменьшение количества аммиака и менее резко выраженное образование нитритов. Естественно возникал вопрос, связано ли падение содержания аммиака в автолизате с изменением форм азота или это уменьшение аммиака есть результат его улетучивания. Чтобы выяснить, какое из этих предположений является правильным, было проведено определение общего азота в фильтратах автолизатов, полученных из клеток Nitrosomonas вначале, т. е. непосредственно после получения автолизатов (контроль), и в конце опыта, т. е. через пять дней. Дополнительно аналогичные определения общего азота были проведены с автолизатами клеток гетеротрофной бактерии Pseudomonas sp. Анализы проводились микрометодом Кьельдаля в модификации, применяемой для определения азота в присутствии нитритов и нитратов. Относящийся к этим опытам цифровой материал приведен в табл. 3. Мы видим, что общее количество азота

Таблица 3

Количество общего азота в фильтратах автолизатов клеток Nitrosomonas и Pseudomonas sp.

(N_2 в миллиграммах на литр)

№ опыта	Микроорганизмы	Количество N_2		Среднее количество N_2	
		начальное	конечное	начальное	конечное
1	Nitrosomonas	85,6	86,6		
2	„	109,2	111,6		
3	„	103,9	102,69	98,35	98,86
4	„	108,49	109,6		
5	„	84,56	85,8		
6	„	98,4	96,9		
7	Pseudomonas sp.	63,7	64,0		
8	„ „	136,9	135,7	100,07	100,25
9	„ „	137,2	138,1		
10	„ „	62,5	63,2		

в начале и в конце опыта остается без изменений. Наблюдаемые колебания лежат в пределах погрешности метода.

Таким образом, аммиак из автолизатов не улетучивается, а под влиянием ферментов, содержащихся в клетках нитрифицирующих бактерий, в автолизатах происходит окисление аммиака.

Об отсутствии клеток в автолизатах

В последние годы особенное внимание уделяется фильтрующимся формам бактерий. О существовании фильтрующихся форм у Nitrosomonas нам ничего не известно, но теоретически оно возможно, и поэтому

возникло предположение, что уменьшение количества аммиака в автолизатах обусловлено жизнедеятельностью фильтрующихся форм нитрификаторов или обычных клеток, проходящих через фильтр СФ. Для выяснения этого вопроса производился посев значительных количеств фильтрата автолизата в обычную среду для нитрифицирующих бактерий. Обычно засевалось 15 мл фильтрата автолизата в колбочку, содержащую 100 мл питательной среды. В общей сложности было проведено девять фильтраций и девять посевов. Из них в восьми случаях роста на обычной среде для нитрификаторов не было. Только в одном случае через 20 дней в культуре появилась положительная реакция на нитриты. Этот единственный положительный опыт побудил провести серию опытов, доказывающих, что единичные клетки или фильтрующиеся формы, которые в исключительных случаях могут пройти через фильтр, не в состоянии в течение короткого срока вызвать заметные изменения в составе автолизата. Вначале было установлено, что нитрифицирующие бактерии не развиваются при 40°. Затем были проведены опыты с фильтратами автолизатов по ранее описанной схеме, но при 40°. При этом оказалось, что бесклеточное ферментативное окисление аммиака протекает с обычной интенсивностью. Следовательно, ферменты могут действовать тогда, когда клетки не способны вызвать окисление аммиака в условиях культуры. В следующих опытах фильтрат автолизата был разделен на три порции. В одной из них были проведены определения аммиака и нитритов непосредственно после фильтрации автолизата (контроль). Во вторую порцию автолизата была внесена петля жидкой культуры нитрифицирующих бактерий. В третью порцию автолизата нитрификаторы не вносились. Вторая и третья порции выдерживались при 37° в течение пяти дней, а затем в них были определены аммиак и нитриты. Для краткости данные не приводятся, так как эти опыты выяснили, что заведомое внесение нитрификаторов в автолизат не изменяет хода ферментативного окисления. Трудно предположить, чтобы через мембранный фильтр могло пройти столько клеток, сколько их содержится в петле культуры, и, следовательно, можно считать, что изменения, происходящие в фильтратах автолизатов, вызываются ферментами, а не клетками нитрификаторов.

Изменения в составе автолизатов, полученных из клеток гетеротрофных бактерий

Метод сравнительной физиологии не только позволяет вносить коррективы в результаты исследований, но дает возможность подтвердить специфичность наблюдаемых биохимических процессов. Уменьшение аммиака в автолизатах нитрифицирующих бактерий говорило о необходимости доказать, что такое уменьшение не наблюдается в автолизатах, полученных из клеток гетеротрофных бактерий. Данные опыты были проведены с клетками Pseudomonas sp., Mycobacterium rubrum и Saccharomyces cerevisiae. О способах выращивания клеток гетеротрофных микроорганизмов говорилось в нашем первом сообщении. Фильтраты автолизатов получались таким же путем, как и в опытах с нитрификаторами. Результаты этих исследований приведены в табл. 4.

Цифровой материал, имеющийся в табл. 4, позволяет сделать следующие выводы.

1. В фильтратах автолизатов, полученных из клеток гетеротрофных микроорганизмов, в течение пяти дней происходит увеличение количества аммиака приблизительно на 30%. Ни в одном из опытов не наблюдалось падения содержания аммиака, столь характерного для автолизатов нитрифицирующих бактерий. Нет также опытов, в которых количество аммиака осталось бы без изменений.

Таблица 4

Опыты с фильтратами автолизатов клеток гетеротрофных микроорганизмов

(Цифры даны в миллиграммах на литр; продолжительность опытов 5 суток)

№ опыта	Микроорганизмы	Количество NH_3				Количество NO_2				Увеличилось NH_3	Образовалось NO_2
		начальное		конечное		начальное		конечное			
		NH_3	N_2	NH_3	N_2	NO_2	N_2	NO_2	N_2	в мг N_2	
1	Saccharomyces cerevisiae	10,0	8,2	20,0	16,4	0,1	0,03	0,25	0,1	8,2	0,07
2	» »	0,24	0,2	11,7	9,6	0,1	0,03	6,3	2,1	9,4	2,07
3	» »	13,1	10,8	18,5	15,2	0,1	0,03	0,8	0,3	4,4	0,27
4	» »	30,9	25,4	36,7	30,2	0,93	0,3	1,11	0,33	4,8	0,03
5	» »	56,5	46,0	58,0	47,7	1,12	0,4	1,5	0,5	1,7	0,1
6	» »	0,24	0,2	3,0	2,4	0,1	0,03	1,5	0,5	2,2	0,47
7	Pseudomonas sp. . . .	0,24	0,2	10,2	8,4	0,1	0,03	0,6	0,2	8,2	0,17
8	» »	5,4	4,4	6,0	5,0	0,1	0,03	0,1	0,03	0,6	0,00
9	» »	50,19	41,3	54,31	44,7	1,88	0,63	2,19	0,7	3,4	0,07
10	» »	62,5	51,5	77,0	63,4	1,0	0,3	1,2	0,4	11,9	0,1
11	» »	42,0	34,5	54,4	44,7	0,1	0,03	0,93	0,3	10,2	0,27
12	» »	94,3	77,7	108,8	89,6	0,25	0,1	0,45	0,2	11,9	0,1
13	» »	53,6	41,2	80,2	66,1	1,2	0,4	1,2	0,4	24,9	0,00
14	» »	48,1	39,9	70,9	58,4	0,6	0,2	1,5	0,5	18,5	0,3
15	Mycobacterium rubrum .	10,0	8,2	32,0	26,2	0,5	0,16	1,31	0,4	18,0	0,24
16	» » .	0,24	0,2	2,1	1,7	0,10	0,03	1,73	0,6	1,5	0,57
	Среднее	29,84	24,37	40,23	33,10	0,52	0,17	1,41	0,47	8,73	0,30

2. Автолизаты гетеротрофных бактерий всегда содержат нитриты, но в меньшем количестве, чем автолизаты нитрификаторов.

3. В течение пяти дней содержание нитритов в автолизатах нитрификаторов возрастает приблизительно в два с половиной раза.

Вышеуказанные изменения в автолизатах гетеротрофов связаны с изменением форм азота, так как общее количество азота в начале и в конце опыта остается (табл. 3) одним и тем же.

* * *

В описанных выше опытах были получены результаты, доказывающие существование фермента, окисляющего аммиак. В связи с этими данными необходимо остановиться на исследованиях, проведенных В. Л. Омелянским с растертыми клетками Nitrosomonas. Он пытался, действуя растертыми клетками, получить окисление аммиака, однако эти опыты не дали положительных результатов. Это могло зависеть от ряда причин: так, В. Л. Омелянский перед растиранием высушивал клетки нитрификаторов, что, естественно, могло отразиться на активности ферментов. Далее следует указать, что основные опыты были им проведены с очень старой культурой (четырехмесячной), в которой, как он сам указывает, были инволюционные формы. Не исключена также возможность, что, выращивая культуру Nitrosomonas в колбах, т. е. в сравнительно малых объемах, нельзя получить достаточного для опытов количества клеток нитрификаторов. Существенно также, что в его опытах добавлялся раствор сернокислого аммония, тогда как растертые, даже предварительно отмытые от следов аммиака клетки Nitrosomonas содержат довольно значительное количество аммиака, а следовательно, вначале идет окисление

этого аммиака. Несмотря на неудачу, исследования В. Л. Омелянского для своего времени были необычайно прогрессивны, так как тогда была известна только одна оксидаза, именно лакказа, а о химизме окислительных процессов в бактериальной клетке почти ничего не было известно. Эксперименты, проведенные нами с гетеротрофными микроорганизмами, показали, что количество аммиака, содержащегося в автолизатах их клеток, при выдерживании в термостате не только не уменьшается, но закономерно возрастает. Это и следовало ожидать, так как в автолизатах происходит дезаминирование аминокислот. Опыты с гетеротрофами не только позволили прийти к выводу о том, что уменьшение количества аммиака в автолизатах клеток нитрификаторов явление строго специфичное для данных автолизатов, но эти наблюдения позволяют с известной долей уверенности предположить, что в автолизатах клеток нитрификаторов протекают одновременно два процесса. Один из них связан с окислением аммиака, что приводит к его уменьшению, другой должен сопровождаться накоплением аммиака, так как нет никаких оснований отрицать возможность параллельно идущего дезаминирования. Трудно предположить, чтобы белок, пептиды и аминокислоты в этих автолизатах не подвергались бы таким же изменениям, как и в автолизатах, полученных из клеток гетеротрофов. Если это так, то в действительности окисляется не только аммиак, содержавшийся в автолизатах в начале опытов, но и аммиак, образующийся при стоянии автолизатов. Отсюда вытекает логичный вывод о том, что в действительности фермент, осуществляющий окисление аммиака, достаточно активен, чтобы (как это имело место в некоторых опытах) почти полностью окислить весь аммиак. В дальнейшем определение различных форм азота в автолизатах, повидимому, подтвердит правильность этого предположения.

Таким образом, вполне вероятно, что нитрификация представляет собой окислительный процесс, состоящий из нескольких этапов. Сейчас уже можно говорить о существовании по крайней мере двух. Первый этап заключается в окислении аммиака с образованием промежуточных продуктов, подобных гидроксиламину, оксимам или другим. Эти продукты накапливаются в клетках в значительном количестве, что подтверждается способностью клеток нитрификаторов к эндогенному нитрифицированию, т. е. образованию нитратов в среде, не содержащей аммонийных солей. Под влиянием ферментов в автолизатах особенно интенсивно протекает именно этот начальный этап нитрификации, т. е. превращение аммиака в промежуточный продукт окисления. Количество окисляемого аммиака значительно и, следовательно, промежуточного продукта накапливается много, токсичность гидроксиламина делает маловероятным предположение, что именно он является промежуточным продуктом окисления. Не предрешая характера соединений, образующихся при окислении аммиака, можно фермент, осуществляющий это окисление, обозначить как «аммоноксидаза». Деятельность этого фермента легко может быть констатирована, если следовать методике, описанной ранее. Значительно менее активно протекает второй этап нитрификации, заключающийся в окислении промежуточного продукта до нитритов. При бесклеточной нитрификации происходит незначительное (по сравнению с количеством уменьшающегося аммиака) образование нитритов. Следует, однако, отметить, что и при развитии клеток нитрификаторов в жидкой культуре также образуется нитритов гораздо меньше, чем окисляется аммиака. Не исключена возможность, что для функционирования фермента, осуществляющего второй этап окисления, необходимы иные условия, чем для деятельности аммоноксидазы. Возникает также предположение о том, что образование нитритов вызывается ферментом, не являющимся достоянием только нитрификаторов, но и других бактерий. Об этом говорит образование нитритов в автолизатах клеток гетеротрофных бактерий. Решение этих вопросов — задача будущих исследований.

Выводы

1. Впервые доказана возможность бесклеточной нитрификации.
2. Фильтраты автолизатов, полученных из клеток нитрифицирующих бактерий, содержат аммиак и нитриты. В течение пяти дней количество аммиака в фильтратах уменьшается в четыре раза, а в некоторых опытах наблюдается почти полное исчезновение аммиака.
3. При добавлении к фильтратам автолизатов сернокислого аммония через пять дней также наблюдается уменьшение аммиака.
4. Окисление аммиака сопровождается образованием сравнительно небольших количеств нитритов.
5. В фильтратах автолизатов гетеротрофных микроорганизмов закономерно наблюдается не уменьшение, а увеличение количества аммиака.
6. Общее количество азота в фильтратах автолизатов нитрификаторов и гетеротрофов в течение опыта не изменяется.
7. Процесс окисления аммиака, повидимому, осуществляется по меньшей мере в две фазы. В начале аммиак окисляется до промежуточного продукта, который в свою очередь окисляется до нитритов. В фильтратах автолизатов, полученных из клеток нитрифицирующих бактерий, особенно активно протекает первая фаза.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 17. II. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. А. и Рубан Е. Л. Бесклеточная нитрификация. I. Выращивание культур Nitrosomonas и получение автолизата клеток. Микробиология, XXIII, вып. 3, 1954.
2. Омелянский В. Л. Выделяют ли нитрозные микробы оксидазу? Избранные труды, I, 167, 1953.

О ГАЗООБМЕНЕ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ ОКИСЛЕНИИ СОРБИТА В СОРБОЗУ

Н. М. Митюшова

Вопрос о газообмене уксуснокислых бактерий в процессе окисления сорбита в сорбозу был поставлен Н. Н. Ивановым. Начальным этапом по выяснению этого вопроса явилась работа Креслинг [3]. На основании полученных данных Креслинг высказала предположение, что в процессе окисления сорбита в сорбозу в первые дни развития культуры Acetobacter melanogenum образуются какие-то промежуточные продукты, связывающие значительно бо́льшие количества кислорода, чем это необходимо для превращения сорбита в сорбозу. Этим автором также было установлено, что культура Ac. melanogenum выделяет небольшие количества углекислоты. Однако вопрос о том, из каких веществ образуется углекислота, остался открытым.

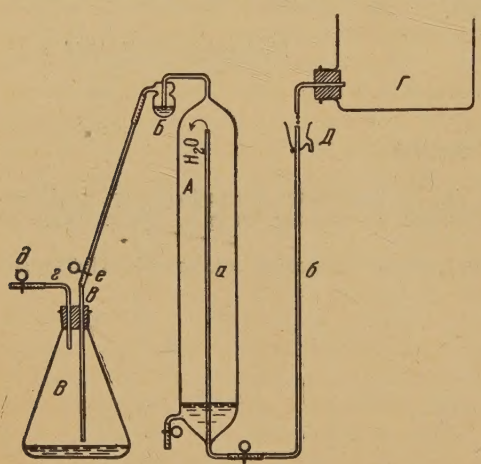


Рис. 1. Схема установки для исследования газообмена

Задача настоящей работы заключалась в исследовании газообмена Ac. suboxydans при окислении сорбита в сорбозу с целью выяснения, является ли окисление сорбита в сорбозу единственным процессом, идущим с поглощением кислорода, или есть еще другие процессы, в которых потребляется кислород, происходит ли при этом выделение углекислоты и в каких количествах и изменяется ли газообмен в зависимости от периодов развития культуры.

Для определения количества кислорода, поглощаемого культурой, мы использовали установку, предложенную Солдатенковым [5]. Аналогичная установка была разработана Журавским [2] и применялась им при изучении газообмена Aspergillus niger.

Эта установка (рис. 1) состоит из баллона (*А*), наполненного кислородом. К баллону через водяной счетчик пузырьков (*Б*) присоединяется опытный сосуд с исследуемым организмом (*В*). В центре баллона проходит трубка (*а*), соединенная с трубкой (*б*), находящейся вне баллона. В трубку (*б*) по каплям все время поступает вода из сосуда (*Г*). Концы трубок (*а*) и (*б*) находятся на одинаковом уровне.

Если давление внутри сосуда (*В*) и баллона (*А*) равняется атмосферному, то вода поднимается по трубке (*а*) до ее верхнего конца, но в баллон не поступает. Излишек воды стекает через отводную трубку воронки (*Д*).

Если организм, помещенный в опытный сосуд, поглощает кислород, то в сосуде, а затем и в баллоне создается некоторое разряжение. В результате этого вода по трубке будет поступать в баллон до тех пор, пока давление внутри системы не станет опять равным атмосферному.

По методике Солдатенкова и Журавского углекислота, выделяемая объектом исследования, должна непрерывно поглощаться щелочью, находящейся в опытном сосуде. В этом случае объем воды, поступившей в баллон, будет равняться объему поглощенного кислорода.

Однако в связи с тем, что культура Ac. suboxydans теряет способность к размножению при удалении углекислоты, как это было установлено нами ранее [4], мы не могли непрерывно удалять выделяющуюся углекислоту. В наших опытах углекислота, образуемая культурой, накапливалась в опытной колбе и определялась только в момент снятия опыта путем поглощения ее $^1/_{20}$ *N* раствором барита. Специально поставленные опыты показали, что те небольшие концентрации углекислоты (до 3%), которые накапливаются в колбе к моменту снятия опыта, не оказывают заметного влияния на жизнедеятельность бактерий.

Так как образующаяся углекислота отчасти заполняла объем, освободившийся от поглощенного кислорода, то при подсчете количества фактически поглощенного кислорода делались соответствующие поправки.

Исследование газообмена Ac. suboxydans мы проводили на среде, состоящей из 0,5%-ной дрожжевой воды (0,5% сухого остатка) и 10% сорбита. Кроме того, в связи с предположением, что углекислота образуется из веществ дрожжевой воды, мы провели наблюдения над газообменом и на среде, содержащей 0,05% экстракта комплекса витаминов В («В-комплекс») и 10% сорбита. Эта среда была предложена сотрудниками Всесоюзного научно-исследовательского витаминного института.

Так как экстракт В-комплекс содержал 49—63% воды, то количество органических веществ (не считая сорбита) в этой среде было приблизительно в 20 раз меньше, чем в среде с дрожжевой водой.

Для лучшего размножения бактерий мы прибавляли к среде с В-комплексом 0,03% NH_4NO_3.

При постановке опыта 30 мл среды, находящейся в конической колбе на 250 мл, заражалось 0,3 мл двухсуточной культуры Ac. suboxydans, выращенной на дрожжевой воде с 10% сорбита.

Опыты ставились на 12, 24 и 48 часов с тем, чтобы проследить за газообменом в различные периоды развития культуры. При постановке и при снятии опыта количество жизнеспособных бактерий, находящихся в среде, определялось методом подсчета колоний.

Поглощение кислорода

Количество кислорода, поглощенное бактериями при различной продолжительности опыта на среде с дрожжевой водой, приведено в табл. 1.

Чтобы выяснить, происходит ли поглощение кислорода воздуха в каких-либо других процессах, кроме процесса образования сорбозы и углекислоты, мы из всего количества поглощенного кислорода вычитали количество кислорода, которое было использовано при образовании углекислоты (в дальнейшем нами было установлено, что источником углекислоты является сорбит, следовательно, $\frac{CO_2}{O_2} = 0{,}9$). Полученные величины, приведенные в таблицах, сравнивались с теми количествами кислорода, которые были необходимы для образования сорбозы согласно уравнению:

$$C_6H_{14}O_6 + O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + H_2O.$$

Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что через 12 часов, т. е. за лаг-фазу и начальный период активного размножения бактерий, количество поглощенного кислорода в большинстве опытов совпадает с количеством кислорода, которое должно быть использовано для образования сорбозы.

Таблица 1

Поглощение кислорода Ac. suboxydans на среде с дрожжевой водой

№ опыта	Количество бактерий в 1 мл в млн.		Количество кислорода в мл	
	начальное	после опыта	поглощенное	необходимое для образования сорбозы
	Продолжительность опыта 12 часов			
1	10	147	4	4
2	10	110	4	4
3	22	379	9	13
4	22	445	13	13
5	10	97	5	3
6	13	182	6	6
	Продолжительность опыта 24 часа			
7	3	2530	77	78
8	3	2260	65	63
9	—	2710	117	113
10	—	2900	93	91
11	10	3380	101	92
12	10	2860	81	80
13	17	3700	97	100
14	14	4100	104	105
	Продолжительность опыта 48 часов			
15	17	800	177	155
16	8	1290	177	174
17	11	1100	190	167
18	—	—	199	198

То же самое мы наблюдали и через 24 часа, когда процесс размножения в основном заканчивается (количество бактерий близко подходит к «микробному числу», т. е. к максимуму, возможному при данных условиях). Количество кислорода, поглощенное культурой за 24 часа, отклоняется от количества кислорода, которое было необходимо для образования сорбозы, на 1—2%, реже на 3—4% как в одну, так и в другую сторону. Только в опыте 11 мы наблюдали отклонение на 10%.

К 48 часам процесс окисления сорбита почти закончен и происходит отмирание бактерий (количество жизнеспособных бактерий уменьшается примерно в 3 раза по сравнению с количеством бактерий через 24 часа). В этом случае количество поглощенного кислорода в двух опытах очень близко к количеству кислорода, которое используется для образования сорбозы. В других двух опытах количество поглощенного кислорода на 10—14% было больше, чем количество кислорода, необходимое для образования сорбозы.

Те же самые результаты были получены нами при наблюдении за поглощением кислорода на среде с В-комплексом + NH_4NO_3 (табл. 2).

На среде с В-комплексом + NH_4NO_3 количество кислорода, поглощенное культурой через 12 и 24 часа, оказалось очень близким к количеству кислорода, которое необходимо для образования сорбозы. Следует отметить, что через 24 часа количество бактерий также близко к тому максимуму, который может быть достигнут культурой на среде с В-комплексом + NH_4NO_3. К 48 часам, когда число жизнеспособных бактерий уменьшается, количество кислорода, поглощенного культурой, из трех опытов только в одном совпадает с количеством кислорода, необходимым для

Таблица 2

Поглощение кислорода Ac. suboxydans на среде с В-комплексом + NH_4NO_3

№ опыта	Количество бактерий в 1 мл в млн.		Количество кислорода в мл	
	начальное	после опыта	поглощенное	необходимое для образования сорбозы
Продолжительность опыта 12 часов				
1	20	242	11	10
2	20	266	10	10
3	22	311	11	12
4	22	197	8	6
5	10	142	6	6
6	13	130	4	4
Продолжительность опыта 24 часа				
7	3	962	88	87
8	3	991	78	75
9	8	1370	106	108
10	8	1640	92	94
11	—	920	77	75
12	14	900	94	90
13	17	340	78	75
14	8	750	80	84
15	—	1330	70	72
16	—	—	95	92
17	—	—	88	87
Продолжительность опыта 48 часов				
18	17	350	155	146
19	8	440	168	170
20	11	320	179	167

образования сорбозы, а в двух других опытах кислорода поглощается больше (на 7—8%). Вероятно, последнее явление связано с какими-то окислительными процессами, происходящими при отмирании бактерий.

Таким образом, проведенное нами исследование поглощения кислорода Ac. suboxydans на среде с дрожжевой водой и на среде с В-комплексом приводит нас к заключению, что в период размножения культуры, кроме образования сорбозы и выделения углекислоты, другие процессы, идущие с поглощением заметных количеств кислорода, очевидно, не имеют места.

Результаты, полученные нами, расходятся с данными Креслинг [3]. По данным этого автора, количество кислорода, поглощенного культурой Ac. melanogenum за все время опыта, в сумме близко подходит к количеству кислорода, которое необходимо для образования сорбозы. Однако если в опытах Креслинг сравнить по дням количество кислорода, поглощенное фактически, с количеством кислорода, вычисленным по образованной сорбозе, то наблюдаются значительные отклонения, достигающие 100% и более. Из четырех поставленных опытов в трех в первые дни кислорода поглощалось больше, чем должно было идти на образование сорбозы, а в следующие дни, наоборот, меньше. На основании этого Креслинг предположила, что в первые дни образуются какие-то промежуточные продукты окисления, связывающие кислород. Наши данные не подтверждают этого предположения.

Выделение углекислоты

Результаты опытов по учету количества выделенной углекислоты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Данные опытов по учету количества выделенной углекислоты

(Дрожжевая вода)

№ опыта	Количество на 1 мл			
	бактерий в млн.		углекислоты в мг	сорбозы в мг
	начальное	после опыта		
Продолжительность опыта 12 часов				
1	10	147	0,15	2,0
2	10	110	0,13	2,0
3	22	370	0,12	7,3
4	22	415	0,14	7,4
5	10	97	0,00	1,6
6	13	182	0,11	3,1
Среднее	15	320	0,11	3,9
Продолжительность опыта 24 часа				
7	3	2530	0,56	41,8
8	3	2260	0,47	35,1
9	—	2710	0,71	60,9
10	—	2900	0,60	48,9
11	10	3380	0,69	49,5
12	10	2860	0,66	43,1
13	17	3700	0,83	54,1
14	14	4100	0,73	56,4
15	8	2250	0,38	31,2
Среднее	9	2940	0,65	46,8
Продолжительность опыта 48 часов				
16	17	800	1,14	83,3
17	8	1290	1,13	93,3
18	11	1100	1,38	90,0
19	—	—	1,40	106,5
20	—	—	1,24	106,0
Среднее	12	1060	1,26	95,2

Данные этой таблицы показывают, что в первые 12 часов выделяется незначительное количество углекислоты, составляющее в среднем 0,11 мг на 1 мл среды. К 24 часам, к концу процесса размножения, количество выделенной углекислоты достигает в среднем 0,65 мг на 1 мл среды. Выделение углекислоты продолжается и во вторые сутки, когда уже начался интенсивный процесс отмирания бактерий. К 48 часам на 1 мг среды приходится 1,26 мг углекислоты.

Установив, что Ac. suboxydans выделяет небольшие количества углекислоты в течение всего периода развития культуры, мы попытались

выяснить, какие вещества являются источниками этой углекислоты. Можно было предположить, что углекислота образуется из веществ дрожжевой воды. Такая мысль была высказана Креслинг [3]. Мы поставили опыт на среде, где дрожжевая вода была заменена В-комплексом + NH_4NO_3. Результаты этой серии опытов представлены в табл. 4.

Таблица 4

Данные опытов по учету количества выделенной углекислоты

(В-комплекс + NH_4NO_3)

№ опыта	Количество на 1 мл			
	бактерий в млн.		углекислоты в мг	сорбозы в мг
	начальное	после опыта		
Продолжительность опыта 12 часов				
1	20	242	0,13	5,5
2	20	266	0,05	5,0
3	22	311	0,09	6,9
4	22	197	0,13	3,0
5	10	142	0,07	3,1
6	13	130	0,06	2,3
Среднее	17	214	0,09	4,2
Продолжительность опыта 24 часа				
7	3	960	0,47	46,8
8	3	990	0,43	40,0
9	3	1370	0,60	57,5
10	8	1640	0,59	50,1
11	—	980	0,48	40,1
12	14	900	0,40	48,3
13	17	340	0,42	40,3
14	8	750	0,50	48,4
15	—	1330	0,45	30,6
16	—	—	0,46	45,5
17	—	—	0,45	38,6
18	—	—	0,48	49,4
19	—	—	0,45	46,9
Среднее	8	1027	0,48	44,8
Продолжительность опыта 48 часов				
20	17	350	0,73	78,5
21	8	440	0,78	92,1
22	11	320	0,77	90,0
Среднее	12	370	0,76	86,8

Данные, приведенные в этой таблице, показывают, что на среде с В-комплексом + NH_4NO_3 также выделяется углекислота. За 12 часов образуется в среднем 0,09 мг углекислоты на 1 мл среды. Через 24 часа количество образованной углекислоты составляет в среднем 0,48 мг на 1 мл, а через 48 часов — 0,76 мг на 1 мл.

Таким образом, опыты, поставленные на среде с В-комплексом + + NH_4NO_3, показывают, что углекислота и в отсутствие дрожжевой воды образуется примерно в таких же количествах, как и в присутствии дрожжевой воды. Очевидно, дрожжевая вода не является тем веществом, из которого образуется углекислота. Вещества В-комплекса также нельзя считать источником углекислоты, так как в 1 мл содержится всего 0,2—0,3 мг органического вещества, а углекислоты образуется до 0,76 мг (за 48 часов).

Возможно, что выделение углекислоты связано с процессами автолиза, происходящими в культуре. Если это действительно так, то основная масса углекислоты должна выделяться во вторые сутки, когда процесс отмирания бактерии наиболее выражен. Однако наши данные показывают, что за вторые сутки выделяется примерно такое же количество углекислоты, как и за первые. Кроме того, углекислота образуется также в течение первых 12 часов, когда бактерии находятся в состоянии энергичного размножения и процент отмирающих бактерий очень мал. Следовательно, образование углекислоты нельзя связать с процессами, происходящими при автолизе тел бактерий.

Можно также предположить, что углекислота выделяется при процессах синтеза бактериальной массы. В этом случае количество выделенной углекислоты должно быть пропорционально количеству бактерий.

Однако одновременное определение количества бактерий и количества выделенной углекислоты показало, что при изменении состава среды эти величины меняются независимо друг от друга. Через 24 часа при одинаковом количестве посевного материала на среде с дрожжевой водой количество бактерий достигло 2960 млн. на 1 мл, а на среде с В-комплексом + NH_4NO_3 — 1020 млн., т. е. в три раза меньше. В это же время на среде с дрожжевой водой выделилось 0,62 мг углекислоты на 1 мл, а на среде с В-комплексом + NH_4NO_3 — 0,48 мг, т. е. меньше только на $^1/_4$ (табл. 3 и 4).

Еще большее расхождение между количеством бактерий и количеством углекислоты мы получили на среде с В-комплексом без NH_4NO_3 (табл. 5).

Таблица 5

Данные опытов по учету количества выделившейся углекислоты (В-комплекс

Продолжительность опыта 24 часа

№ опыта	Количество на 1 мл			
	бактерии в млн.		углекислоты в мг	сорбозы в мг
	начальное	после опыта		
1	8	281	0,27	36,1
2	11	129	0,25	25,5
Среднее	9	200	0,26	30,8

В этом случае через 24 часа количество бактерий на среде с В-комплексом было в 14 раз меньше, чем на среде с дрожжевой водой. В то же время количество выделившейся углекислоты уменьшилось только в 2 раза.

Таким образом, соотношение количества выделившейся углекислоты и количества образованных за это время клеток может резко изменять-

ся в зависимости от состава среды (рис. 2). Очевидно, выделение углекислоты нельзя поставить в непосредственную связь с нарастанием количества бактерий.

Одновременное наблюдение за процессом образования сорбозы и углекислоты (табл. 3 и 4) показало, что между этими процессами со временем устанавливается определенная связь. К 12 часам как на среде с дрожжевой водой (табл. 3), так и на среде с В-комплексом (табл. 4) еще нельзя установить какого-либо постоянного соотношения между количеством образованной сорбозы и количеством выделенной углекислоты. Но к 24 часам между выделением углекислоты и образованием сорбозы уже существует весьма тесная связь. Через 24 часа углекислота составляет:

на среде с дрожжевой водой (табл. 3) 1,2—1,5% по весу от количества образованной за это время сорбозы; на среде с В-комплексом $+NH_4NO_3$ (табл. 4) 1,0—1,2% и на среде с В-комплексом (табл. 5) 0,8—0,9%.

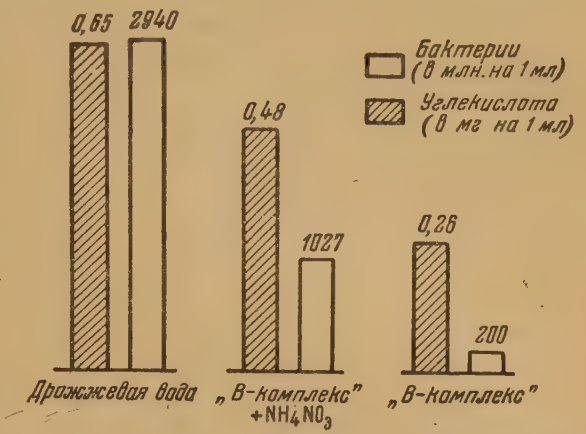


Рис. 2. Соотношение количества бактерий и количества выделенной углекислоты на разных средах (по данным табл. 3, 4, 5; результаты опытов через 24 часа)

К 48 часам на среде с дрожжевой водой сохраняется то же самое соотношение, как и через 24 часа (1,2—1,4%), а на среде с В-комплексом $+ NH_4NO_3$ выделение углекислоты по отношению к процессу образования сорбозы несколько замедляется (0,8—0,9%).

Приведенные величины показывают, что между образованием сорбозы и выделением углекислоты существуют определенные соотношения, несколько меняющиеся в зависимости от состава среды и продолжительности опыта.

В этом отношении наши результаты прямо противоположны данным Креслинг, которая не наблюдала какой-либо связи между образованием сорбозы и выделением углекислоты.

Так как выделение углекислоты постоянно сопутствует процессу окисления сорбита в сорбозу, то можно предположить, что углекислота, так же как и сорбоза, образуется при окислении сорбита.

Для подтверждения этого мы поставили опыты по определению выделения углекислоты «покоящейся» культурой бактерий.

200 мл односуточной культуры бактерий, выращенной на дрожжевой воде с 10% сорбита, центрифугировалось, полученный осадок дважды промывался физиологическим раствором и переносился в 20 мл физиологического раствора с 10% сорбита. Полученная взвесь бактерий помещалась в опытный сосуд с пористым дном, благодаря чему достигалось равномерное распределение воздуха, постоянно проходящего через жидкость. Воздух, поступающий в сосуд, предварительно освобождался от углекислоты. Углекислота, выделяемая культурой в течение опыта, уносилась с током воздуха и поступала в поглотитель с $^1/_{20}$ N раствором барита. Результаты этих опытов приведены в табл. 6.

Как видно из данных таблицы, отмытая суспензия бактерий, помещенная в физиологический раствор с сорбитом, также выделяет углекислоту. Соотношение количества образованной сорбозы и выделенной углекислоты выражается в цифрах того же порядка, как и в опытах на питатель-

ных средах (в большинстве опытов углекислота составляет 1—2% по весу от количества образованной за это время сорбозы).

Таким образом, опыты с «покоящейся» культурой также показали, что выделение углекислоты не связано с процессом синтеза. Кроме того, эти опыты подтвердили наше заключение о том, что углекислота не образуется из веществ дрожжевой воды.

На основании полученных данных можно предположить, что, вероятно, углекислота образуется при окислении сорбита. Чтобы окончательно решить вопрос об источнике углекислоты, нужно было доказать, что в опытах с «покоящейся» культурой углекислота не может образоваться из вещества самой клетки при так называемом эндогенном дыхании (Винберг, [1]).

Таблица 6

Выделение углекислоты „покоящейся" культурой

(Физиологический раствор с 10% сорбита)

№ опыта	Промежутки времени в часах	Количество на 1 мл в мг	
		углекислоты	сорбозы
1	0—12	0,35	35,0
2	0—2	0,41	28,5
	2—22	1,24	42,0
3	0—2	0,37	47,5
	2—14	0,27	14,0
4	0—4	0,33	20,7
5	0—3	0,30	14,2
	3—5	0,24	24,3
6	0—5	0,49	33,1

Для этого мы определяли, какое количество углекислоты будут выделять бактерии, если их поместить в физиологический раствор без сорбозы. Одновременно определялось количество углекислоты, выделенной в присутствии сорбита. Результаты этих опытов приведены в табл. 7.

Данные, приведенные в этой таблице, показывают, что бактерии, помещенные в физиологический раствор без сорбита, углекислоты не выделяют или выделяют в очень незначительных количествах, а бактерии, имеющие в своем распоряжении сорбит, выделяют определенные количества углекислоты. В то же время количество жизнеспособных бактерий после пребывания их в физиологическом растворе с сорбитом и в физиологическом растворе без сорбита остается примерно одинаковым. Очевидно, отсутствие выделения углекислоты бактериями, находившимися в физиологическом растворе без сорбита, нельзя объяснить тем, что бактерии в этих условиях погибают.

Таблица 7

Выделение углекислоты „покоящейся" культурой

(Физиологический раствор с сорбитом и без сорбита)

№ опыта	Продолжительность опыта в часах	Количество углекислоты на 1 мл в мг		Количество бактерий в 1 мл в млн.	
		с сорбитом	без сорбита	с сорбитом	без сорбита
1	4	0,33	0,05	—	—
2	5	0,54	0,00	4500	4100
3	5	0,49	0,00	3700	3200

Следовательно, эта серия опытов подтверждает наше предположение о том, что источником углекислоты является сорбит.

Данная работа, как и две ранее опубликованные по физиологии сорбозных бактерий, выполнена под руководством проф. З. Г. Разумовской, за что приношу ей искреннюю благодарность.

Выводы

1. Окислительными процессами Ac. suboxydans, идущими с поглощением кислорода воздуха, на среде с сорбитом являются окисление сорбита в сорбозу и окисление сорбита до углекислоты. Других процессов, идущих с поглощением кислорода, не обнаружено.

2. Основным окислительным процессом является окисление сорбита в сорбозу. Количество сорбита, окисленного до углекислоты, составляет около 1% от количества сорбита, окисленного до сорбозы.

3. Процессы образования сорбозы и выделения углекислоты протекают параллельно.

Ленинградский государственный университет им. А. А. Жданова

Получено 18. I. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Винберг Г. Г. Интенсивность дыхания бактерий. Успехи совр. биол., 21, 401, 1946.
2. Журавский Г. И. Метод количественного определения поглощенного при дыхании кислорода. Ботанич. журн. СССР, 21, 117, 1936.
3. Креслинг Е. К. Изучение газообмена при окислении сорбита под влиянием Ac. melanogenum. Рукопись. Отчеты ВНИВИ, 1940.
4. Митюшова Н. М. Исследование газообмена уксуснокислых бактерий при окислении сорбита в сорбозу. Диссертация, ЛГУ, 1951.
5. Солдатенков С. В. Роль кислорода в созревании плодов. Изд-во Ленингр. ун-та, 1940.

СКОРОСТЬ РАЗМНОЖЕНИЯ ТЕРМОФИЛЬНЫХ ДРОЖЖЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО

Л. Г. Логинова и *М. М. Василевская*

Многочисленные исследования, посвященные изучению широко распространенной в природе группы термофильных микроорганизмов, показывают, что отличительной чертой этой группы микробов является значительное ускорение у них всех физиологических процессов при высокой температуре.

Более ускоренный рост и развитие этих микроорганизмов при повышенной температуре по сравнению с мезофилами сопровождаются более быстрым старением и отмиранием их клеток (Имшенецкий и Солнцева [3], Мишустин [5], Первозванский и Чельцова [6]).

Детально изучая биологические особенности отдельных представителей различных групп термофильных микроорганизмов, Имшенецкий [1] показал, что ускорение биохимических процессов у большинства из них находится в прямой зависимости от скорости размножения микробов.

Однако существенное влияние на скорость этого процесса оказывает также быстрое освобождение ферментов из клеток, что вызывается более быстрым старением последних и их распадом.

Биологические особенности термофильных микроорганизмов в большинстве случаев изучались на формах, выделенных из природы. Работ, посвященных экспериментальному изучению термофилов и детальному изучению их свойств, имеется ограниченное число.

Возможно, это объясняется тем, что приучить микробы к физическому фактору значительно труднее, чем, например, к химическим веществам. В ранее опубликованных работах (Имшенецкий и Логинова [2], Логинова [4]) было показано, что в лабораторных условиях путем длительного приучения к постепенно повышающейся температуре можно получить форму дрожжей, энергично развивающуюся при высокой температуре.

Детальное изучение свойств этой расы показало, что она значительно отличается от исходной как культуральными, так и физиологическими особенностями.

Данная работа представляет собой отдельный этап исследований, посвященных изучению динамики размножения термофильных дрожжей Saccharomyces cerevisiae XII раса при сбраживании пивного сусла в условиях повышенной температуры (40°).

Методика

Опыты были проведены с экспериментально полученной расой дрожжей, которая длительное время (в течение 8 лет) культивировалась на пивном сусле с высоким содержанием сахара (14, 15 г в 100 мл среды).

В качестве контроля была взята исходная форма Sacch. cerevisiae XII раса, которая этот же период времени культивировалась в аналогичных условиях, но при температуре 28—30°.

Основной целью работы было выяснение скорости размножения термофильных дрожжей и динамики накопления их биомассы при высокой температуре (40°). Поэтому в процессе роста и развития этой куль-

туры производился в определенные интервалы времени учет количества образовавшихся клеток.

Постановка опытов при этом была следующая.

В серию эрленмейеровских колбочек емкостью 150 мл вносилась среда в количестве 75 мл. Посев производился равным количеством водной суспензии дрожжей.

Первоначальное накопление дрожжей проводилось на пивном сусле (16° Балг.). Затем, после суточного культивирования, жидкость с осадка дрожжей сливалась и приготовлялась дрожжевая суспензия на стерильной водопроводной воде. Колбы, предназначенные для количественного учета дрожжевых клеток, накопленных в среде, закрывались ватными пробками. Одновременно другая часть колб закрывалась клапанами Мейсля. Последние предназначались для сбраживания среды с учетом количества образовавшегося спирта. Длительность брожения двое-трое суток. В аналогичных условиях ставилась серия параллельных колб, где засев среды был произведен исходной расой. Опыты проводились при различных температурах. В течение опыта велись микроскопические наблюдения за состоянием дрожжевых клеток. Прямой счет дрожжей осуществлялся в камере Горяева. Параллельно делался высев культуры на чашки Петри с сусло-агаром. Чашки выдерживались в термостате при 30°. В части опытов учитывался прирост биомассы в конце брожения. Это достигалось путем суммарного определения сухого веса биомассы из двух параллельных колб. Сахар в среде определялся по методу Бертрана, спирт — по методу Мартена.

Приведенный в таблицах цифровой материал по количественному учету продуктов брожения в среде и по сухому весу биомассы представляет средние данные из двух параллельных опытов.

Экспериментальная часть

В более ранних исследованиях (Логинова [4]) было установлено, что при температуре 40° на пивном сусле количество накопленных клеток после двухсуточного развития как исходной, так и экспериментально полученной расы дрожжей меньше, чем в контроле (контролем служили исходные дрожжи, развивающиеся при температуре 28—30°).

Однако при брожении, проведенном исходными дрожжами, наблюдалось некоторое снижение выхода спирта и значительное отмирание клеток, в то время как у дрожжей, приученных к высокой температуре, выход продуктов брожения был такой же, как в контроле, и процент мертвых клеток был незначителен.

Чем объясняется тот факт, что при высокой температуре у термофильной расы обнаруживается меньше клеток, чем в контроле? Является ли более замедленное развитие свойством экспериментально полученной расы дрожжей или же данная форма интенсивно развивается при высокой температуре, но быстрее стареет и гибнет?

Приведенные ниже результаты дают ответ на поставленный вопрос.

Опыты по изучению динамики накопления дрожжей в процессе трехсуточного культивирования были проведены на пивном сусле, содержащем 14,44 г сахара в 100 мл среды.

Цифровые данные по брожению, проведенному с экспериментально полученной и исходной формой дрожжей, развивающихся на среде одного и того же состава, но при различных температурах, приведены ниже (рис. 1, табл. 1 и 2).

Мы видим, что процесс размножения при высокой температуре проходил с большей скоростью у термофильных дрожжей по сравнению с исходной культурой, лучшее развитие которой происходило при 28—30°. Максимальное количество накопленных клеток к 22 часам брожения было равно 41,7 млн. в 1 мл среды, в то время как исходная

Таблица 1

Скорость размножения дрожжей, исходных и приученных к повышенной температуре, на пивном сусле с высоким содержанием сахара

(14,44 г в 100 мл)

№ опыта	Температура опыта в °	Возраст культуры в час.	Кол-во дрожжевых клеток в 100 мл среды в млн.		% клеток, окрашенных метиленовой синью		Число колоний на плотных средах	
			контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
1	28—30	20	33,5	—	—	—	162,0	—
		44	40,75	—	—	—	119,6	—
		72	35,0	—	—	—	138,0	—
1	39—40	20	—	39,6	—	—	—	221,5
		44	—	36,6	—	—	—	80,3
		72	—	25,0	—	—	—	116,6
2	39—40	46	13,6	44,3	36,4	2,2	39,5	—
		47	12,2	44,0	40,98	0,7	—	215
3	39—40	22	21,01	55,4	24,7	0	35,0	346
		48	14,95	49,75	68,2	3,51	68,2	—
4	28—30	58	51,6	118,5	—	—	151	397

Примечание. Контроль — исходные дрожжи, культивировавшиеся при температуре 28—30°; опыт — термофильные дрожжи, культивировавшиеся при температуре 39—40°.

Таблица 2

Сбраживание пивного сусла дрожжами, адаптированными к высокой температуре

(Продолжительность опыта 46 час.)

Раса	Температура опыта в °	Первоначальное содержание сахара в 100 мл среды в г	Спирт в 100 мл среды в г	Несброженные редуцирующие вещества в 100 мл среды в г	Кол-во дрожжевых клеток в 1 мл среды в млн.
Исходная	28—30	14,44	3,89	8,84	36,1
Термофильная . . .	39—40	14,44	4,42	7,40	38,7

культура за это же время накапливала лишь 30,5 млн. клеток в том же объеме среды (рис. 1).

Произведенный высев равного количества культуральной жидкости исходными и термофильными дрожжами на плотные среды также показал, что количество выросших колоний на чашках больше у термофильных дрожжей (табл. 1).

При более длительном брожении (44 часа) количество клеток в контроле несколько возрастает и достигает 40,75 млн. в 1 мл среды, в то время как количество клеток у термофильной формы начинает уже снижаться (36,6 млн. в 1 мл среды, рис. 1).

Таким образом, максимальное количество клеток, накопленных в среде у экспериментально полученной формы при 40°, примерно такое

же, как в контроле, но скорость размножения клеток значительно бо́льшая.

Интересно отметить, что процесс размножения у двух вышеуказанных форм в первые два-три часа проходит несколько замедленно, но в последующие часы заметно усиливается.

Бо́льшая скорость размножения у термофильной культуры также сопровождается и более быстрым накоплением в среде продуктов брожения.

Приведенные цифровые данные показывают (табл. 2), что за 46 часов брожения при 40° термофильная форма накапливает спирта 4,42 г

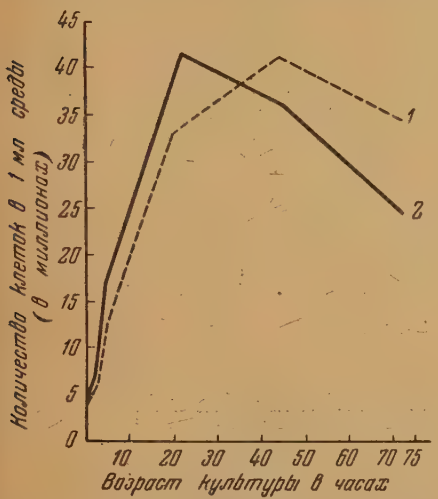


Рис. 1. Скорость размножения дрожжей, приученных к повышенной температуре, на пивном сусле с высоким содержанием сахара (14,44 г в 100 мл)

1 — контроль. Дрожжи, длительное время культивировавшиеся при температуре 28—30° (температура опыта 28—30°); 2 — опыт. Дрожжи, длительное время культивировавшиеся при температуре 39—40° (температура опыта 39—40°)

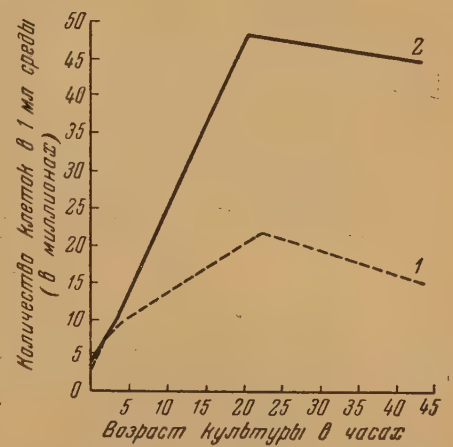


Рис. 2. Скорость размножения дрожжей, приученных к повышенной температуре, на пивном сусле с высоким содержанием сахара

1 — контроль. Дрожжи, длительное время культивировавшиеся при температуре 28—30° (температура опыта 39—40°); 2 — опыт. Дрожжи, длительное время культивировавшиеся при температуре 39—40° (температура опыта 39—40°)

в 100 мл среды, в то время как за этот же период брожения, при температуре 28—30°, исходная форма образует всего лишь 3,89 г спирта в 100 мл среды. Соответственно и количество редуцирующих веществ, оставшихся в среде, бывает при этом больше.

При брожении, проведенном в колбах, закрытых клапанами Мейсля, количество клеток в среде после двухсуточного брожения примерно одинаково у двух вышеуказанных форм, развивающихся при соответствующих температурах

Возможно, что в этих условиях создавались в среде более анаэробные условия при высокой температуре, что несколько ограничивало быстроту размножения дрожжей, и у них еще не наступал к этому времени частичный распад и лизис клеток. После двухсуточного брожения состояние дрожжей было еще очень хорошее и клеток, окрашенных метиленовой синью, не обнаруживалось.

В дальнейшем следовало выяснить, будут ли заметные отличия в динамике накопления биомассы у экспериментально полученной и исходной расы дрожжей, если развитие их будет происходить при высокой температуре (40°).

Анализ полученных данных показывает (рис. 2 и 3), что исходные дрожжи, помещенные в необычные для них температурные условия,

значительно медленнее размножаются (примерно в 3—4 раза) по сравнению с формой, приученной к высокой температуре.

После двухсуточного культивирования у исходной расы при 40° наступает массовая гибель клеток (40—68%) (табл. 1, опыт № 2, 3).

В аналогичных условиях роста у адаптированной формы процент мертвых клеток незначителен (0,7—3,5).

Высев равного объема культуральной жидкости на плотные среды также обнаруживает значительную разницу в числе образовавшихся колоний. Так, например, если количество колоний у исходной формы было 39,5, то у термофильных дрожжей их будет значительно больше — 215 (табл. 1, опыт № 2).

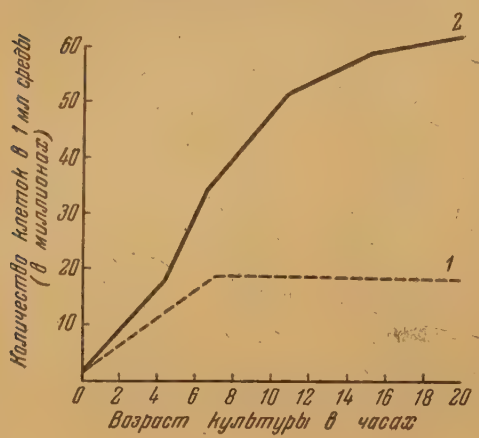


Рис. 3. Скорость размножения дрожжей, приученных к повышенной температуре, на пивном сусле с высоким содержанием сахара

1 — контроль. Дрожжи, длительное время культивировавшиеся при температуре 28—30° (температура опыта 39—40°); *2* — опыт. Дрожжи, длительное время культивировавшиеся при температуре 39—40° (температура опыта 39—40°)

Различие было выявлено также и в весе накопленной биомассы у двух вышеуказанных рас дрожжей.

Если после двухсуточного брожения при 40° сухой вес исходных дрожжей (0,2751 г) принять за 100%, то сухой вес клеток термофильной расы будет равен 0,4094 г, т. е. 148,8%.

Микроскопическая картина состояния клеток изучаемых форм дрожжей представлена на рис. 4.

Значительно пониженная скорость размножения у исходной расы дрожжей при высокой температуре (40°) сопровождается также и понижением их биохимической активности (табл. 3).

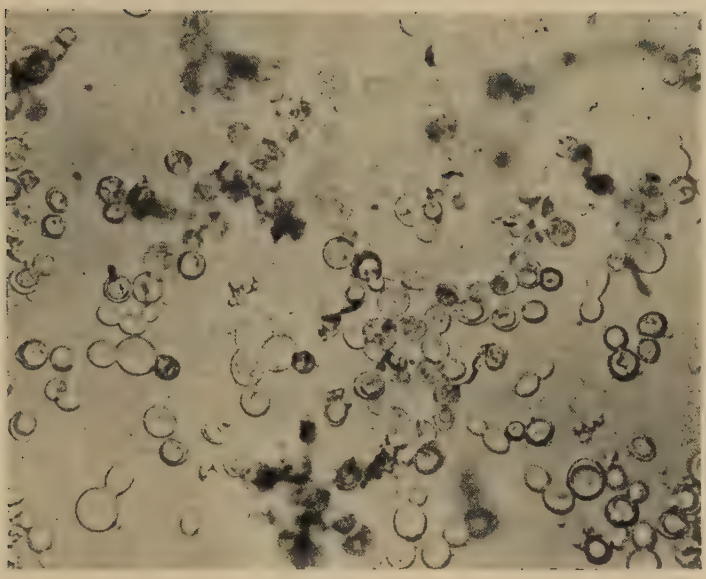
Так, в результате трехсуточного брожения, проведенного термофильной расой при температуре 40°, спирта образовалось 4,3—5,03 г в

Таблица 3

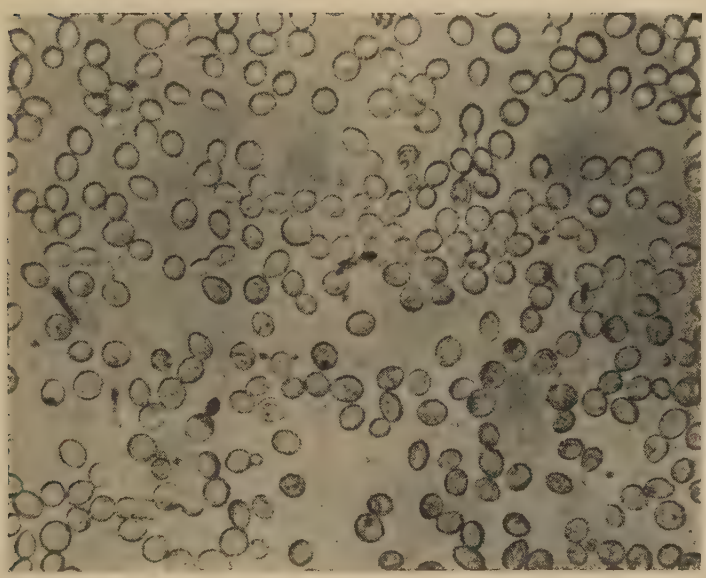
Сбраживание пивного сусла дрожжами, приученными к высокой температуре, и исходными

(Температура опыта 39—40°)

№ опыта	Раса	Длительность брожения в час.	Первоначальное кол-во сахара в среде в г	Спирт в 100 мл среды в г	Несброж. редупир. вещества в 100 мл среды в г	Кол-во дрожжевых клеток в 1 мл среды в млн.	% клеток, окрашенных метилен. синью
1	Исходная	46	15,4	4,27	8,14	21,7	26,5
	Термофильная	46	15,4	5,03	7,26	44,9	2,84
2	Исходная	48	14,86	2,66	10,30	13,65	Нет определений
	Термофильная	48	14,86	3,61	8,48	31,4	
3	Исходная	72	14,86	3,54	9,35	11,1	
	Термофильная	72	14,86	4,30	7,38	31,4	



А



Б

Рис. 4. Внешний вид дрожжей, приученных к высокой температуре, и исходных после двухсуточного развития их на среде пивное сусло высокого баллинга. Температура опыта 39—40°

А — контроль. Исходные дрожжи, не приученные к развитию при 40°;
Б — опыт. Дрожжи, приученные к развитию при 40°

100 мл среды, в то время как у исходной формы его образовалось всего лишь 3,54—4,27 г в 100 мл среды.

Приведенные выше данные также наглядно показывают, что высокая температура сильнее действует на процесс размножения у исходной расы дрожжей, чем на бродильную способность.

Указания по этому поводу мы находим и в литературе. Так, Уайт и Манс (White and Munns [8]) изучали скорость потребления сахара у дрожжей при сбраживании сусла при различных температурах (от 20 до 40°). Они установили, что скорость ассимиляции у дрожжей является максимальной при 36°, в то время как для процесса сбраживания этот максимум лежит выше 40°.

Аналогичные указания имеются и у ряда других исследователей. Имшенецкий [1] по этому поводу пишет: «Теоретически вполне вероятно, что при некоторой высокой температуре размножение клеток уже начинает тормозиться, тогда как биохимические превращения не только будут продолжаться в культуре, но могут протекать весьма активно».

По установлении основных закономерностей в поведении экспериментально полученной расы дрожжей при высокой температуре представляло значительный интерес выявить их физиологические особенности при температуре более низкой (28—30°), оптимальной для исходной формы.

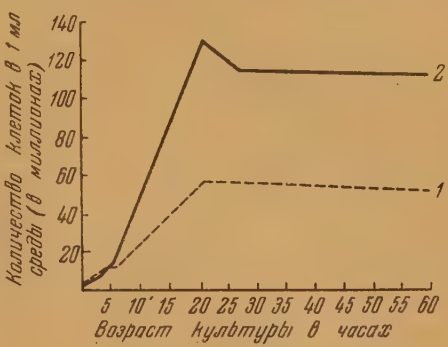


Рис. 5. Внешний вид дрожжей, приученных к высокой температуре, и исходных после двухсуточного развития их на среде пивное сусло высокого баллинга. Температура опыта 39—40°

1 — контроль. Исходные дрожжи, не приученные к развитию при 40°; *2* — опыт. Дрожжи, приученные к развитию при 40°

Следует заметить, что в предыдущей работе (Логинова [4]) было показано, что при указанных условиях опыта клетки термофильной культуры начинали почковаться с необычайной быстротой (в два-три раза интенсивнее, чем исходная раса при этой температуре). В результате этого в конце брожения было накоплено значительно больше клеток. При этом клетки термофильной формы были заметно меньше по величине и более округлой формы. Однако в вышеуказанной работе динамика процесса размножения изучена не была.

На рис. 5 показаны кривые по накоплению клеток у изучавшихся форм дрожжей. Из приведенных данных видно, что в процессе развития термофильная форма с исключительной быстротой накапливает биомассу и количество клеток в конце брожения значительно больше, чем у исходной формы.

Учет сухого веса биомассы как тех, так и других дрожжей подтверждает это положение (табл. 4). Если сухой вес дрожжей исходной расы в среднем принять за 100%, то у экспериментально полученной формы за этот же промежуток времени (72 часа) накапливается биомассы 120, 72%.

Биохимическая активность в данных условиях опыта почти одинакова у двух вышеуказанных форм дрожжей (табл. 5). Объяснить значительную стимуляцию процесса размножения у изучаемых термофилов при температуре 28—30° пока трудно. Этот вопрос требует дальнейшего изучения. Выявив интересную закономерность в поведении термофильных рас дрожжей (способность накапливать большую биомассу при пониженной температуре по сравнению с исходной), в дальнейшем было интересно проверить, сохранится ли это свойство у указанной расы

Таблица 4

Накопление биомассы исходной и термофильной расами дрожжей

(Среда — сусло, содержащее 12,2—13,5 г сахара в 100 мл. Дрожжи предварительно культивировались на сусле 16 Балг., температура опыта 30°)

№ опыта	Раса	Кол-во оставшихся редуцир. веществ в среде в г	Кол-во дрожжевых клеток в 1 мл среды в млн.		Сухой вес биомассы	
			в начале опыта	в конце опыта	в г	в %*
1	Исходная	3,55	2,76	55,85	0,7008	100,0
	Термофильная	3,01	2,76	104,80	0,8045	114,7
2	Исходная	—	6,34	49,50	0,5406	100,0
	Термофильная	—	6,34	93,35	0,6611	122,2
3	Исходная	4,53	4,65	63,55	0,6207	100
	Термофильная	3,91	4,65	138,75	0,7775	125,26

* Сухой вес исходной культуры принят за 100%.

Таблица

Сбраживание пивного сусла культурой дрожжей, приученной к высокой температуре, и исходной

(Температура опыта 28—30°)

Раса	Длительность брожения в час.	Первоначальное содержание сахара в 100 мл среды в г	Спирт в 100 мл среды в г	Несброж. редуцир. вещества в 100 мл среды в г	Кол-во дрожжевых клеток в 1 мл среды в млн.
Исходная	46	14,64	4,72	6,67	55,85
Термофильная	46	14,64	4,83	6,67	104,80

дрожжей при их развитии на сусле с пониженным содержанием сахара в среде (6—7 г в 100 мл).

Полученные данные показали (табл. 6), что эта закономерность также сохраняется, но выражена несколько слабее. Однако если брожение проводить дрожжами, которые длительно культивировались на сусле, содержащем также низкие концентрации сахара, то увеличения биомассы у термофильной расы дрожжей по сравнению с исходной не наблюдается. Однако различие в количестве клеток после брожения все же имеется (табл. 7).

Данная работа наглядно показывает, что общебиологические закономерности, которые присущи термофилам, выделенным из природы, также распространяются и на экспериментально полученную термофильную расу дрожжей.

Значительно бо́льшая устойчивость к воздействию высокой температуры и ускорение при этом всех физиологических процессов, протекающих в клетке, являются основной отличительной особенностью изучаемой культуры.

В опытах было показано, что исходная раса дрожжей, помещенная в необычные для нее температурные условия (40°), значительно снижает свой темп размножения. Клетки при этом принимают необычную форму,

Таблица 6

Накопление биомассы исходной и термофильной расами дрожжей

(Среда — сусло, содержащее 6,88—6,57 г сахара в 100 мл. Дрожжи предварительно культивировались на сусле 16° Балг. Температура опыта 30°)

№ опыта	Раса	Кол-во оставшихся редуцир. веществ в среде в г	Кол-во дрожжевых клеток в 1 мл среды в млн.		Сухой вес биомассы	
			в начале опыта	в конце опыта	в г	в %*
1	Исходная	0,27	5,7	68,30	0,5475	100
	Термофильная	0,30	5,7	117,0	0,6019	109,9
2	Исходная	0,24	3,97	64,25	0,6256	100
	Термофильная	0,29	3,97	101,9	0,6628	105,9
3	Исходная	0,37	5,48	59,37	0,4439	100
	Термофильная	0,38	5,48	90,60	0,4925	110,9

* Сухой вес исходной культуры принят за 100%.

Таблица 7

Накопление биомассы исходной и термофильной расами дрожжей

Среда — сусло, содержащее 6,72—7,14 г сахара в 100 мл. Дрожжи предварительно культивировались на сусле 7 Балг. Температура опыта 30°)

№ опыта	Раса	Кол-во оставшихся редуцир. веществ в среде в г	Кол-во дрожжевых клеток в 1 мл среды в млн.		Сухой вес биомассы	
			в начале опыта	в конце опыта	в г	в %*
1	Исходная	0,33	6,0	46,5	0,4625	100
	Термофильная	0,35	6,0	65,0	0,4370	94,3
2	Исходная	0,28	5,6	57,0	0,5182	100
	Термофильная	0,26	5,6	78,5	0,5257	101,4

* Сухой вес исходной культуры принят за 100%.

и уже ко вторым суткам культивирования наблюдается массовая их гибель. Однако бродильная энергия у исходной формы в этих условиях культивирования еще довольно высока.

Вопрос об отношении различных групп ферментов к действию высоких температур интересовал многих исследователей.

В настоящее время с достоверностью установлено, что ферменты дыхания более чувствительны к высокой температуре, чем гидролитические ферменты (Холден [7], Имшенецкий [1], Мишустин [5] и др.).

Однако несомненно, что в процессе приспособления микроорганизмов к высокой температуре, одновременно с перестройкой всего обмена

клетки, также существенным образом сдвигаются и температурные границы действия клеточных ферментов.

Последнее обстоятельство дает возможность микробам существовать в зоне высоких температур.

Выводы

1. Размножение термофильной расы дрожжей, полученной экспериментально, протекает при высокой температуре (40°) значительно быстрее, чем у исходной формы при температуре 28—30°.

2. Культивирование исходной расы дрожжей при высокой температуре угнетает процесс размножения в большей степени, чем их бродильную функцию. Длительное воздействие высокой температуры на исходную культуру дрожжей приводит к их массовой гибели.

3. Скорость размножения термофильных дрожжей заметно увеличивается при 28—30° и сопровождается бóльшим накоплением их биомассы по сравнению с контролем, т. е. с исходной мезофильной культурой дрожжей.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Получено 12. I. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Имшенецкий А. А. Микробиологические процессы при высоких температурах. Изд. АН СССР, 1944.
2. Имшенецкий А. А. и Логинова Л. Г. Адаптация дрожжей к повышенной температуре. Микробиология, XIII, 136, 1944.
3. Имшенецкий А. и Солнцева Л. The growth of aerobic thermophilic bacteria. J. Bact., 49, No. 6, 539, 1945.
4. Логинова Л. Г. Адаптация дрожжей. Брожение, вызываемое дрожжами, адаптированными к высокой температуре. Микробиология, XVII, 15, 1948.
5. Мишустин Е. Н. Термофильные микроорганизмы в природе и практике. Изд. АН СССР, 1950.
6. Первозванский В. и Чельцова Ю. Сбраживание целлюлозы элективными культурами термофильных бактерий. Микробиология, V, 385, 1936.
7. Холден Д. Энзимы. Перевод и ред. С. И. Пронина. Госхимтехиздат, 1934.
8. White J. and Munns D. Influence of temperatur on yeast growth and fermentation. J. Inst. Brewing, 57, No. 4, 1951.

АНТИБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДРОЖЖЕЙ, СБРАЖИВАЮЩИХ УГЛЕВОДЫ

А. М. Скородумова

В нашей предыдущей статье [1] сообщалось об антибиотических свойствах дрожжей и дрожжеподобных организмов, сбраживающих лактозу. В ней было отмечено, что при совместном посеве на картофельно-лактозный агар Bact. prodigiosum и дрожжей, не сбраживающих лактозу, Saccharomyces cerevisiae XII и Schizosaccharomyces pombe (африканских) не наблюдалось зон угнетения роста Bact. prodigiosum, т. е. эти дрожжи не обладали антагонистическими свойствами к данной культуре, какие были отмечены у дрожжей, сбраживающих лактозу. Дальнейшие исследования показали, что у дрожжей, сбраживающих лактозу, антагонистические свойства проявляются не только в присутствии лактозы, но при наличии в среде других углеводов (сахарозы, глюкозы), которые они способны сбраживать. При введении же в среду мальтозы, которую они не сбраживают, зоны подавления роста вокруг штрихов дрожжей не образуются. Значит, подавляющие рост вещества вырабатываются и выделяются дрожжевой клеткой не обязательно при наличии лактозы, а в присутствии углевода, который она может использовать при брожении. Полученные данные заставили пересмотреть вопрос о том, является ли наблюдаемое нами подавление роста характерным свойством только дрожжей, сбраживающих лактозу, или оно присуще всем дрожжам, сбраживающим углеводы. Изучение антибиотических свойств дрожжей, не сбраживающих лактозу (Sacch. cerevisiae XII и Schizosacch. pombe), в предыдущих опытах [1] проводилось на картофельной среде с лактозой (10%-ный картофельный отвар + 2% лактозы + 1,5% агара). Полученные в этих опытах отрицательные результаты, возможно, явились следствием того, что исследованные дрожжи не сбраживали лактозы. Для более детального изучения этого вопроса мы использовали в качестве питательной среды картофельный агар с глюкозой — углеводом, наиболее доступным для сбраживания большинству видов дрожжей. Было поставлено три серии опытов. В первой серии опытов исследовались два штамма Sacch. cerevisiae XII и три штамма дрожжей, сбраживающих лактозу, выделенных из различных кисломолочных продуктов. Испытания проводились для сравнения на двух средах с различными углеводами: на картофельно-глюкозном агаре (КГА) с pH=6,5 и 6,0 и на картофельно-лактозном агаре (КЛА) pH = 6,5; тест-объектом служила культура Mycobacterium perrugosum. Результаты первой серии опытов представлены в табл. 1.

Из приведенных данных видно, что штаммы Sacch. cerevisiae XII дают зоны подавления роста на среде с глюкозой и не образуют их на среде с лактозой, тогда как дрожжи, сбраживающие лактозу, образуют зону в присутствии обоих углеводов. При более низком значении величины pH среды зоны подавления роста шире; возможно, что антибиотика выделяется больше или при кислой реакции он активнее.

Во второй серии опытов была исследована большая группа дрожжей, не сбраживающих лактозу, и в качестве тест-объекта были взяты грамотрицательные палочки Bact. aerogenes и Bact. prodigiosum. Эти культуры были внесены в картофельно-глюкозный агар и последний разлит в чашки Петри; после застывания на поверхность его нанесены штрихи различных видов дрожжей, сбраживающих глюкозу, и голландских дрож-

Таблица 1

Действие различных видов дрожжей на рост Mycobacterium perrugosum

№ опыта	Питательная среда	pH	Размеры в мм зон подавления роста дрожжами				
			не сбраживающими лактозу		сбраживающими лактозу		
			Sacch. cerevisiae XII		К	кефирными	13
			штамм 1	штамм 2			
1	КЛА	6,5	0	0	10	5	10
2	КГА	6,5	5	5	15	5	15
3	КГА	6,0	5	10	15	15	15

Таблица 2

Действие различных видов дрожжей на рост грамотрицательных палочек

(На среде с глюкозой)

№ опыта	Тест-объекты	Размеры в мм зон подавления роста дрожжами							
		Sacch. cerevisiae XII	Sacch. cerevisiae	Sacch. cerevisiae № 7	Schizosacch. pombe	черной смородины	Torula murmanica	сбраживающими лактозу	голландскими
1	Bact. aerogenes	10	10	10	15	15	10	10	0
2	Bact. prodigiosum	5	5	5	5	15	5	5	0

жей, выделенных из масла и не сбраживающих углеводов. Результаты опытов приведены в табл. 2.

Все исследуемые штаммы дрожжей сбраживали как глюкозу, так и сахарозу и дали зоны подавления роста на средах с этими углеводами. Дрожжи, сбраживающие лактозу, и Torula murmanica не сбраживали мальтозы и не дали зон подавления роста бактерий на среде с этим углеводом. Дрожжи черной смородины образовали зоны и на среде с мальтозой, которую они способны сбраживать. В результате проведенных опытов мы приходим к выводу, что при наличии в среде углевода, который исследуемые дрожжи сбраживают, клетками дрожжей образуются и выделяются в среду вещества, подавляющие развитие бактерий.

Все виды дрожжей, сбраживающих глюкозу, образовали зоны подавления роста. Голландские дрожжи, не сбраживающие углеводов, хотя и выросли на питательной среде, но зон подавления роста не дали. Результаты этих двух серий опытов подтвердили наши предположения, что и другие виды дрожжей также способны выделять вещества, задерживающие рост бактерий, если присутствует в питательной среде углевод, который они способны сбраживать. Для уточнения последнего положения была поставлена еще третья серия опытов на средах с различными углеводами. С этой целью к картофельному агару прибавляли по 2% глюкозы, или сахарозы, или мальтозы и проводили посевы, как в предыдущих опытах. Результаты представлены в табл. 3 и на рисунке.

Таблица 3

Действие дрожжей на рост грамотрицательных палочек на среде с различными углеводами

№ опыта	Состав среды	Тест-объекты	Размеры в мм зон подавления роста дрожжами				
			Schizosacch. pombe	Torula murmanica	черной смородины	сбраживающими лактозу	
						К	84
1	Картофельный агар + + 2% глюкозы	Bact. prodigiosum	5	5	5	5	5
2	То же	Bact. aerogenes	5	5	5	5	5
3	Картофельный агар + + 2% сахарозы	Bact. prodigiosum	5	5	5	5	5
4	То же	Bact. aerogenes	5	5	5	5	5
5	Картофельный агар + + 2% мальтозы	Bact. prodigiosum	5	0	5	0	0
6	То же	Bact. aerogenes	5	0	5	0*	0

* Слабый рост дрожжей.

Возможно, что эти вещества являются какими-либо продуктами брожения; благодаря диффузии в агар они не подвергаются дальнейшим ферментативным изменениям. Реальность такого предположения подтверждается наблюдаемой зависимостью между активностью спиртового брожения исследуемых штаммов дрожжей и шириной зоны подавления роста; штаммы, наиболее энергично сбраживающие углеводы, давали и более широкую зону (см. таблицы двух первых серий опытов).

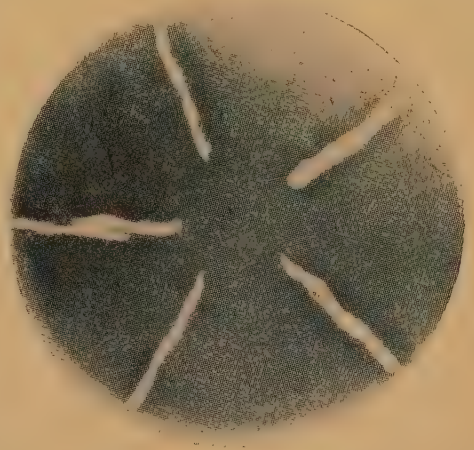


Рис. 1. Образование зон подавления роста Bact. aerogenes различными видами дрожжей на картофельно-глюкозном агаре

Конечными продуктами спиртового брожения являются спирт и углекислота; кроме того, образуется незначительное количество летучих кислот и молочной кислоты. При наличии в среде 2% углевода спирта может образоваться не больше 1%. Едва ли такое количество спирта может быть причиной образования зон подавления роста. Все же для выяснения вопроса о том, какой процент спирта может задерживать рост бактерий, были поставлены следующие опыты. К картофельно-лактозному агару прибавляли 5% и 10% спирта. На косую поверхность такого агара в пробирках наносились штрихи Bact. prodigiosum. Через двое суток на 10%-ном спиртовом КЛА рост во всех пробирках отсутствовал, 5% спирта не задерживали роста. Следовательно, спирт в наших опытах не может быть причиной задержки роста бактерий. Возможно, что причиной подавления роста бактерий является снижение величины pH в результате накопления кислот. Для выяснения этого вопроса были по-

ставлены следующие опыты. В синтетической среде Ганзена с 3% лактозы и 1,5% агара устанавливалась определенная реакция до значения pH = 7,0, 6,5 и 6,0 по бромтимол-блау, который вводился в среду. При pH = 7,0 среда окрашивается в зелено-синий цвет; при pH = 6,5 — в сине-зеленый и при pH = 6,0 — в желто-зеленый. На поверхность таким образом приготовленного застывшего агара наносили штрихи штаммов дрожжей, наиболее активно сбраживающих лактозу, и Sacch. cerevisiae XII. Через сутки культивирования при температуре около 30° штрихи и питательная среда вокруг них окрасились в желтый цвет, даже на среде с нейтральной реакцией. Значит, происходит сильное изменение реакции среды с величины pH = 7,0 до pH = 6,0—5,5 (желтая по бромтимол-блау). У Sacchar. cerevisiae XII на этой среде рост был, но отмечалось очень слабое изменение реакции. На картофельно-глюкозном агаре резкое изменение реакции среды в зоне подавления роста наблюдалось и у Sacch. cerevisiae. При замене бромтимол-блау другим индикатором — метил-рот — получили те же данные.

Итак, дрожжи при своем развитии на твердых питательных средах в присутствии углевода, который они способны сбраживать, выделяют в окружающую среду кислые продукты обмена веществ и резко изменяют реакцию питательной среды. Все же это изменение не настолько велико, чтобы оно послужило причиной подавления роста бактерий, так как для бактерий, взятых нами в качестве тест-объектов, минимальная точка роста лежит около pH = 4,5.

Для окончательного решения вопроса о том, что же является причиной образования зон подавления роста бактерий, снижение ли величины pH или выделение какого-либо специфического антибиотика, были поставлены еще дополнительные опыты на картофельно-глюкозном агаре с добавлением 50%-го раствора фосфатного буфера, pH = 6,0. При внесении в такой агар культуры Bact. prodigiosum и посеве на застывшую поверхность штрихами различных видов дрожжей через сутки были заметны зоны подавления роста вокруг штрихов, хотя изменения величин pH вокруг штрихов и не происходило, что устанавливалось также проверкой индикатором.

Полученные данные подтверждают, что образование зон подавления роста, повидимому, обусловлено не изменением величины pH, а выделением дрожжами, кроме кислот, какого-то специфического вещества, обладающего антибиотическими свойствами и активно действующего при кислой реакции среды.

Итак, изложенные выше исследования, проведенные на твердых питательных средах, показали, что антибиотическими свойствами обладают не одни только дрожжи, сбраживающие лактозу, но все испытанные культуры дрожжей и дрожжеподобных организмов, способных сбраживать углеводы среды.

Из бродящей культуральной жидкости (среды Ганзена или картофельного бульона с лактозой или глюкозой) антибиотик был экстрагирован и получен в виде неочищенного концентрированного раствора. Полученный концентрированный раствор в больших разведениях задерживает рост грамположительных непатогенных бактерий — Micrococcus candicans, Mycobact. luteum, Mycobact. album, Bac. subtilis, Bac. mesentericus, Bac. mycoides и в небольших разведениях — грамотрицательных палочек Bact. prodigiosum и Bact. aerogenes.

Наибольший титр по Bac. subtilis равен $^1/_{4000}$. Раствор антибиотика довольно термостабилен: кипячение не инактивирует его, а только несколько понижает активность.

Стерилизация при 110° в течение 30 мин. снижает активность наполовину. Так, например, раствор антибиотика, образуемого Sacch. cerevisiae XII, действует бактериостатически на туберкулезную палочку в разведении 1 : 80; после же автоклавирования — в разведении 1 : 40; полу-

ченный из культуры дрожжей, сбраживающих лактозу, в разведении 1 : 160; после автоклавирования — в разведении 1 : 80. Опыты с туберкулезной палочкой проводились Соловьевым по разработанной им методике [2].

Наиболее активный раствор антибиотиков был получен при сбраживании лактозы: он действовал бактериостатически на туберкулезную палочку в разведении 1 : 800 и бактерицидно в разведении 1 : 400. Из патогенных бактерий исследованной кишечной группы этот раствор неочищенного антибиотика действует на тифозную палочку бактериостатически в разведении 1 : 800 и бактерицидно — в разведении 1 : 400; на дизентерийную палочку Флекснера — в разведении 1 : 800. Кроме того, он задерживает рост дифтерийной палочки в разведении 1 : 800 и бактерициден при разведении 1 : 200.

Полученные ранее данные [1], что дрожжи при своем росте не дают зон задержки роста кишечной, дизентерийной, сенной палочки на твердых питательных средах, не согласуются с действием раствора антибиотика. Расхождение объясняется тем, что первые опыты проводились на мясо-пептонном агаре, который из-за входящего в его состав пептона снижает активность на твердых питательных средах, а иногда и полностью инактивирует действие антибиотика.

Раствор антибиотика дает отрицательную реакцию на белок (по биуретовой реакции и осаждению белка спиртом).

Приведенный экспериментальный материал говорит о том, что антибиотик является продуктом обмена веществ, как-то связанным с процессом брожения, и до сих пор он не был обнаружен лишь благодаря малому его содержанию.

Поскольку образование антибиотика связано с жизнедеятельностью дрожжей, он был назван нами сахаромицетином.

Выводы

1. Исследованные нами дрожжи и дрожжеподобные организмы при росте на твердых питательных средах, содержащих углеводы, который они способны сбраживать, выделяют в среду какое-то вещество, обладающее антибиотическими свойствами. Образование этого вещества связано, повидимому, с процессом брожения.

2. Полученный неочищенный, концентрированный раствор антибиотика термостабилен, не дает биуретовой реакции, бактерицидно и бактериостатически действует на грамположительных микробов и несколько слабее на грамотрицательных (Bact. prodigiosum и Bact. aerogenes), более активен при кислой реакции среды.

Из исследованных патогенных бактерий задерживает рост туберкулезной палочки, тифозной, дизентерийной и дифтерийной.

Естественно-научный институт
им. П. Ф. Лесгафта
Ленинград

Получено 23.V.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скородумова А. М. Антибиотические свойства дрожжей, сбраживающих лактозу. ДАН СССР, LXXX, стр. 257, 1951.
2. Соловьев В. А. К методике определения чувствительности туберкулезных микобактерий к антибиотикам. Проблемы туберкулеза, № 3, 31, 1952.

БАКТЕРИОФАГИЯ У МОЛОЧНОКИСЛЫХ ПАЛОЧЕК ТИПА LACTOBACTERIUM PLANTARUM

Н. И. Сербинова и Е. В. Сокольская

Явление бактериофагии у молочнокислых палочек, развивающихся в растительных продуктах, изучено недостаточно. В отечественной литературе по этому вопросу находим только работу Дрель-Гитис [1], выделившей из речной воды бактериофаг к молочнокислым палочкам типа Lactobact. plantarum, инфицировавшим спиртовое производство. Выделенный автором бактериофаг был высокого титра и лизировал три культуры типа Lactobact. plantarum. Лизис протекал при pH = 4,0—8,5 при температуре в 28—37°. Бактериофаг сохранял литические свойства еще и при 70°, инактивировался при 75°.

Дальнейшее изучение бактериофагии у бактерий типа Lactobact. plantarum, инфицирующих спиртовое производство, является предметом настоящей работы.

Необходимые для опытов молочнокислые бактерии в количестве 100 штаммов были выделены с чешуек зерна, зеленого солода, из солодового молока, патоки и бродящих заторов на спиртовых заводах.

В солодовом сусле при 20—28° через 10—17 часов все штаммы давали равномерную муть, которая через 72 часа оседала на дно. При микроскопировании были обнаружены грамположительные неподвижные неспороносные палочки 1,5—8 × 0,5—1 μ, располагавшиеся в одиночку, парами, короткими и длинными цепочками. Образование цепочек или длинных палочек было характерно для молодых культур. В старых культурах преобладали короткие палочки и диплобактерии. У некоторых культур палочки иногда склеивались. Образования капсул и пигмента не было отмечено. Рост на мясо-пептонных средах слабый. Колонии на капустном и солодовом агаре у большей части штаммов беловатые или бесцветные, круглые, выпуклые, 1—3 мм в диаметре, гладкие с перламутровым отливом и ровными или слегка волнистыми краями. У меньшей части культур колонии плоские, часто вдавленные в середине. На солодовой желатине форма и величина колоний разнообразна, в толще желатины колонии шарообразные гладкие, иногда прозрачные.

Температурный оптимум у большей части штаммов 30—35°. После 30-минутной выдержки при 60° бактерии переставали развиваться.

50% штаммов не свертывали лакмусового молока, вызывая только легкое порозовение или вовсе не изменяя его цвета. Остальные свертывали его очень медленно — на 20—30-й день и позже. Только единичные штаммы свертывали молоко сравнительно быстро — на 4—6-й день.

Все выделенные бактерии были активными кислотообразователями. В течение 24 часов они подкисляли сусло до 0,4—1,25° Д.

Максимальное количество кислоты — 0,8—3,85° Д у разных культур наблюдалось на 9—23-е сутки.

Бактерии очень чувствительны к реакции среды. Оптимальный pH развития находился в пределах 7,0—5,0. При pH ниже 5,0 рост некоторых штаммов сильно замедлялся, а при 3,5—3,0 прекращался. У менее кислотостойких рост прекращался при pH = 4,9—4,7.

Отношение выделенных штаммов к различным углеводам и некоторым спиртам изучалось в пробирках с газоуловителями на МПБ, к кото-

рому добавлялся 1% испытуемых веществ. В табл. 1 приведено количество штаммов, сбраживающих тот или иной углевод или спирт, в процентах к общему числу их. Применявшиеся для опытов растворы декстринов и растворимого крахмала предварительно обрабатывались дрожжами для удаления примесей сахаров.

Таблица 1

Образование кислоты на углеводах и спиртах молочнокислыми бактериями типа Lactobact. plantarum

(Количество штаммов дано в процентах к их общему числу)

Образование кислоты	Глюкоза	Галактоза	Арабиноза	Мальтоза	Сахароза	Лактоза	Рафиноза	Декстрин	Крахмал	Глицерин	Маннит	Этиловый спирт
Энергичное	100	92	86	97	62	57	54	25	8	5	8	0
Слабое	0	5	7	3	32	43	40	60	30	62	49	41
Не образуется	0	3	7	0	5	0	5	15	62	32	43	59

Наиболее энергично шло образование кислоты на глюкозе, галактозе и арабинозе, а из дисахаридов на мальтозе; слабее — на сахарозе, лактозе и рафинозе. На растворе декстринов только 25% штаммов давали энергичное кислотообразование и 60% — слабое, 15% не сбраживали декстринов. На растворе крахмала только 8% штаммов дали сильное кислотообразование, около 30% — слабое и 62% не дали кислоты. Из испытанных спиртов лучше всего усваивался глицерин, хуже — этиловый спирт.

Газовыделения при сбраживании углеводов у подавляющего числа штаммов не наблюдалось. Только у некоторых культур при росте уколом в солодовой желатине были большие пузырьки газа.

Бактерии оказались чрезвычайно устойчивыми к этиловому спирту. Наличие 1,5% спирта в среде слегка тормозило их развитие, однако прекращение роста бактерий наступало только при 12—14 об.% спирта.

К антисептикам — формалину, хлору и сернистому газу — лактобактерии очень чувствительны. Хлор и формалин в дозах 0,01% уже приостанавливали развитие большей части культур. Сернистый газ в количестве 70 мг в 1 л сильно угнетал развитие бактерий.

Выделение бактериофагов

Методика

Предварительными исследованиями было установлено, что наилучшим материалом для выделения бактериофагов к палочкам типа Lactobact. plantarum был зеленый солод. Повидимому, носителями бактериофагов в данном случае являлись молочнокислые бактерии, находившиеся между чешуйками зерна. В процессе соложения зерна наступали весьма благоприятные для размножения бактерий условия температуры и влажности, которые содействовали и проявлению бактериофагии.

Методика выделения бактериофагов применялась следующая. Несколько зерен зеленого солода вносились в колбу со 100 мл стерильного солодового сусла, содержащего 10% сухих веществ, и выдерживались 15—20 часов при 20°. За это время в сусле начиналось размножение находившихся между чешуйками солода лактобактерий. Слегка замутившуюся и ставшую более или менее кислой жидкость нейтрализовали и фильтровали через асбестовый фильтр «СФ». Фильтрат испытывался на наличие бактериофага высевом с 50—100 культурами молочнокислых

бактерий в пробирки с солодовым суслом и одновременно на 1%-ный солодовый агар. В каждую пробирку, содержащую 5 мл сусла, добавляли 1 мл фильтрата и 1 петлю молодой 15-часовой культуры. Через 10—15 часов при 20° в контрольных пробирках появлялась муть от размножавшихся бактерий. Из опытных же пробирок только те немногие, в которых было заметно полное или частичное просветление сусла, подвергали фильтрации через асбестовый фильтр «СФ». Фильтраты снова пассировали с 15-часовыми культурами до появления резкой картины лизиса.

Для обнаружения бактериофагов на твердой среде чашки с 1%-ным солодовым агаром слегка подсушивались. После этого на поверхность агара наносились параллельные штрихи испытуемых культур молочнокислых бактерий и подсушивание повторялось. Затем на каждый штрих маленьким ушком петли накладывали мелкие капельки фильтратов и инкубировали при 28—30°. Если в фильтрате имелся бактериофаг, то на месте наложенной капельки у чувствительной культуры образовывался прозрачный кружок, резко выделявшийся на выросшем штрихе. В некоторых случаях, как, например, при выявлении бактериофага С, на месте нанесенной капли фильтрата были видны отдельные мелкие стерильные пятнышки (tâches vierges). При появлении стерильных участков бактериофаг с них переносился петлей или иглой в пробирки с суслом, куда подсевалась молодая культура, взятая петлей у края стерильного пятна. В контрольные пробирки высевали исходную культуру. После лизиса культуры бактерий в пробирках получали фильтрат, содержащий специфический бактериофаг.

Полученные таким путем бактериофаги снова рассевались на твердую среду с соответствующими культурами и из отдельных мелких стерильных пятнышек выделялись бактериофаги для дальнейшего их изучения. Титр бактериофагов определялся по Аппельману.

Характеристика выделенных бактериофагов

Пользуясь вышеописанной методикой, мы выделили 16 бактериофагов: 9 — с поверхности зеленого солода (бактериофаги С, Е, 4, 16, 26, 31, 34, 42 и 50), 6 — из смывов с поверхности свеклы (бактериофаги 2, 57, 61, 63, 62 и 67) и один из молока (бактериофаг М). Перечень выделенных бактериофагов и их основные свойства приведены в табл. 2.

Все выделенные бактериофаги обозначены номерами тех культур, которые они лизировали, за исключением бактериофагов Е, М и С, обозначенных буквами.

Специфичность. Почти все бактериофаги оказались узко специфичными, так как в большинстве случаев диапазон действия каждого из них ограничивался одним штаммом. Бактериофаг 61 лизировал культуры 61 и 62, а бактериофаг 62 — только свою культуру. Бактериофаг 63 действовал на культуры 63 и 67, в то время как бактериофаг 67 лизировал только свою культуру. Бактериофаги 16, Е, М и С действовали на морфологически разные, но очень близкие по своим физиологическим свойствам (кислотообразованию) штаммы. Бактериофаг 16 лизировал также и штамм $^{14}/_{9}$, чувствительный к бактериофагу М, но последний не действовал на штамм 16. Бактериофаг Е лизировал штаммы 23 и 31, между тем как бактериофаг 31 не оказывал никакого действия на штамм 23. Бактериофаги лизировали гладкие и шероховатые варианты культур.

Активность. Только некоторые бактериофаги, как, например, № 4, в момент выделения имели высокий титр. Обычно же титр бактериофагов в момент выделения был невысок —10^{-1}—10^{-3} и повышался только после частых пассажей с чувствительными культурами. Половина бактериофагов обладала низким титром, который, несмотря на много-

Таблица 2

Свойства выделенных бактериофагов

Бактериофаг	Откуда выделен	Число лизируемых культур	Титр бактериофага	Характер и величина стерильных пятен	Время появления вторичного роста через	Температурный оптимум для лизиса в °	Термостойкость бактериофага	Температура инактивации бактериофага в °	Оптимальный pH для лизиса
M	Молоко	3	10^{-5}	До 1 мм	30—35 час.	30	60°—15′	65—70	8,0—4,6
C	Зеленый солод	2	10^{-12}	Круглые до 2 мм	48—60 „	22—32	70°—10′	75	5,6—5,0
4	То же	1	10^{-15}	До 2 мм	30 дней	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
26	„	1	10^{-12}	Мелкие неясные расплывчатые .	48 час.	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
34	„	1	10^{-7}	До 1,5 мм . . .	24 часа	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
16	„	5	10^{-5}	Очень мелкие до 0,25 мм	17 дней	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
31	„	1	10^{-5}	Мелкие	24 часа	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
42	„	1	10^{-5}	До 1,5 мм	15 дней	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
50	„	1	10^{-5}	Мелкие	10 „	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
E	„	3	10^{-4}	До 1,5 мм	24 часа	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
61	Свекла	2	10^{-13}	„ 1,5 „ . . .	24—30 час.	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
62	„	1	10^{-12}	„ 1,5 „ . . .	24—30 „	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
63	„	2	10^{-8}	„ 1,5 „ . . .	20—24 „	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
67	„	1	10^{-8}	„ 1,5 „ . . .	20—24 „	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
57	„	1	10^{-4}	„ 1,5 „ . . .	24 часа	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7
2	„	1	10^{-3}	„ 1,5 „ . . .	20—24 часа	20—35	60°—30′	65—70	5,0—5,7

численные пересевы, оставался на уровне 10^{-5}. Бактериофаг С долго сохранял первоначальный титр 10^{-6} и только после ежедневных пересевов в течение 3 недель увеличил его до 10^{-12}.

При частых пересевах активность бактериофагов возрастала и по отношению к старым культурам. Они стали лизировать посевы из 2—4-суточных культур так же быстро, как и из суточных. Лизис семисуточных культур запаздывал на 10 часов. Бактериофаги с низким титром не лизировали восьмисуточные культуры, в то время как бактериофаги с высоким титром лизировали и 14-дневные культуры, но лизис происходил с запаздыванием, вероятно, вследствие медленного размножения культур. Титр бактериофагов при действии на старые культуры снижался. Например, у бактериофага С при действии на трехсуточную культуру титр был 10^{-10}, а при действии на 14-суточную — 10^{-6}.

Стерильные пятна. Стерильные пятна у выделенных бактериофагов были размером до 1—2 мм в диаметре (рис. 1), большей частью круглые, иногда неправильной формы, резко очерченные. Только у бактериофага 26 пятна были расплывчатые, без резких очертаний. У бактериофага 16 стерильные пятна были особенно мелки — величиной с укол иглы.

Мелкие капельки бактериофагов, нанесенные на засеянные и слегка подсушенные штрихи лизабильных культур, давали полный лизис (рис. 2).

Вторичный рост в фаголизатах у большей части культур появлялся через 20—24 часа. У бактериофага 26 вторичный рост начинался через двое суток, у С — на третьи сутки, лизат бактериофага 4 не мутился в течение нескольких недель, а некоторые его пробирки оставались

прозрачными в течение нескольких месяцев. Бактериофаги 16, 42 и 50 не давали вторичного роста в течение 10—17 дней.

Температурный оптимум для действия бактериофагов находился между 20—35°.

Термоустойчивость бактериофагов изучалась в узких пробирках с прозрачным солодовым суслом, куда добавляли по 1 мл фильтрованного фаголизата. Прогревание в воде длилось 30, 45 и 60 минут при 55—75° и постоянном помешивании, после чего пробирки охлаждали до 30° и различные разведения фаголизата засевали с каплей соответствующей культуры, встряхивали и помещали в термостат на 20 часов.

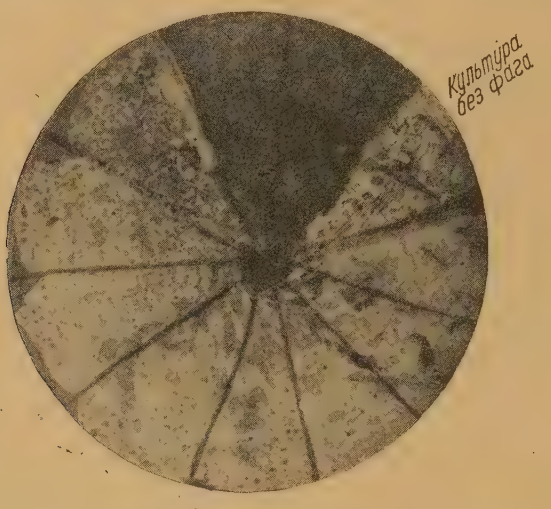


Рис. 1. Стерильные пятнышки (tâches viérges), образованные при разных разведениях бактериофага С

30-минутное прогревание при 55° снижало титр бактериофагов в 10 раз; 60-минутное — в 100 раз. 30-минутное прогревание при 60° снижало титр в 1000 раз. У бактериофагов с низким титром уже 15-минутное прогревание при 60° сильно снижало титр и уменьшало стойкость.

Термоустойчивость бактериофагов высокого титра позволяла прогревать лизаты при 55—60° для освобождения их от резистентных клеток. Прогретые фаголизаты, хранившиеся 7 дней при 20°, были стерильны.

Бóльшая часть бактериофагов инактивировалась при 65—70° через 5—10 минут. Бактериофаг С инактивировался при 75°.

Отношение к активной кислотности среды. Бактериофаги лизировали культуры как в нейтральной, так и кислой среде. Оптимальный pH для действия бактериофагов 5,0—5,7. Предельные же границы pH у разных бактериофагов различны. У бактериофага С, лизирующего слабо кислотообразующие штаммы, границы действия лежали между pH = 7,0 и 5,0. У бактериофага М, лизирующего сильные кислотообразователи, они гораздо шире — от pH = 8,0 до 3,7.

Отношение к этиловому спирту изучалось только у бактериофагов С и М. Содержание спирта в среде, начиная от 5%, замедляло начало лизиса до 24 часов вследствие задержки развития культур. Но бактериофаги С и М оказались значительно более стойкими к спирту, чем лизируемые ими культуры. Например, культура 12, развивавшаяся при 11% спирта, при 13% уже не развивалась. Бактериофаг же С, находившийся 4 суток в 13% спирте, нормально лизировал эту культуру только с некоторым уменьшением титра (10^{-10} вместо 10^{-12}). Четырехсуточная выдержка этого бактериофага в 18 и 20% спирте сильнее ослабила его. Лизис в этом случае был неполным.

Культура, лизировавшаяся бактериофагом М, почти не развивалась при 10% спирта. Бактериофаг же, выдержанный четверо суток в 13% спирте, действовал нормально. Но после четырехдневной выдержки в 16% спирте титр его был 10^{-3} вместо 10^{-5}.

Законсервированный 25% спирта бактериофаг М в опыте брожения вызвал лизис бактериальной культуры.

Отношение к антисептикам. Стойкость бактериофагов к некоторым антисептикам очень невелика. Даже небольшие дозы хлора

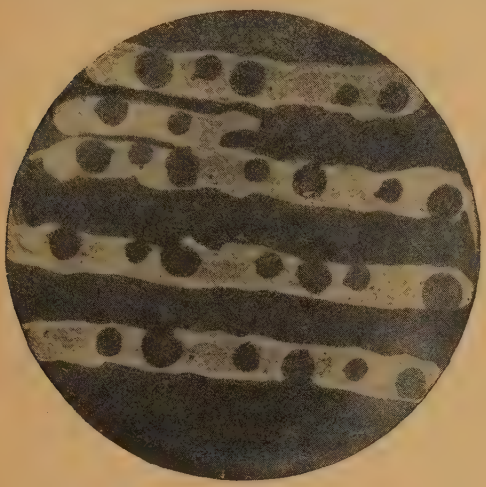


Рис. 2. Лизис штамма $\frac{14}{9}$ на месте нанесения капель бактериофага М

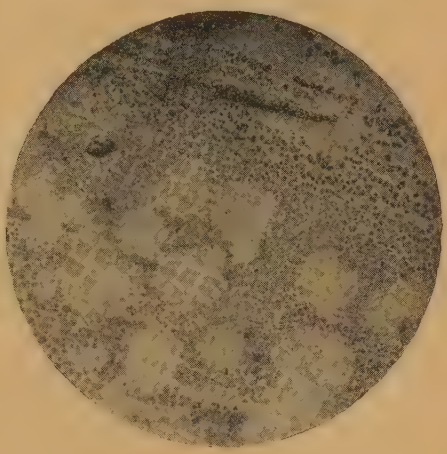


Рис. 3. Бактериофаг с культурой № 7. Микрофотография стерильных пятен Ув. 15×

(0,0035%) и формалина (0,01%) угнетали бо́льшую часть бактериофагов. Более устойчивым к хлору оказался бактериофаг С.

Действие сернистого газа изучалось на бактериофагах С и М. SO_2 в дозе 40 мг на 1 л не снижал активности этих бактериофагов. Время появления лизиса и стойкость у них были нормальными.

Хранение бактериофагов производилось в леднике при температуре от 0 до 4°. При этом титр их медленно снижался, но после частых пассажей быстро восстанавливался.

Было изучено также действие на молочнокислые бактерии трех бактериофагов к молочнокислым стрептококкам, полученных из Института микробиологии им. Заболотного. Два из них — $Р_ж$ и $Р_2$ — так же, как и наш бактериофаг С, лизировали культуру молочнокислых бактерий № 7.

Имевшиеся в нашем распоряжении 19 бактериофагов были испытаны в различных комбинациях при сбраживании сусла, инфицированного солодом. Однако смесь бактериофагов не вызывала полного лизиса всех развившихся в сусле молочнокислых бактерий. Вследствие узкой специфичности бактериофагов происходил только частичный лизис, благодаря которому нарастание кислотности в опытных колбах было на 0,2—0,3° Д ниже, чем в контрольных.

Приносим глубокую благодарность М. Л. Непомнящей за указания по методике получения бактериофагов.

Выводы

1. На зернах прорастающего солода, на поверхности корней свеклы и в молоке найдены 16 бактериофагов к молочнокислым бактериям типа Lactobact. plantarum.

2. Выделенные бактериофаги чрезвычайно специфичны. В большинстве случаев действие их ограничивалось только одним штаммом.

3. Титр выделенных бактериофагов был 10^{-5} — 10^{-15}. Вторичный рост у многих из них наступал в течение нескольких недель.

4. Температурный оптимум для лизиса находился в пределах 20—35°, бактериофаги были устойчивы к температуре 60—70°, инактивация их наступала при 65—75° через 5—10 минут.

5. Оптимальный pH для лизиса находился между 5,0—5,7. Границы действия для бактериофагов к сильным кислотообразователям лежали между pH = 8,0—3,7, а для бактериофагов к слабым кислотообразователям — между pH = 7,0—5,0.

6. Бактериофаги более стойки к этиловому спирту, чем чувствительные к ним культуры; два из них сохраняли активность при четырехсуточной выдержке с 16 и 25% спирта.

7. Устойчивость бактериофагов к антисептикам (формалин, хлор) невелика. Сернистый газ в дозе 40 мг на 1 л не снижал активности бактериофагов.

Киевский филиал
Всесоюзного научно-исследовательского
института спиртовой промышленности

Получено 10. X. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дрель-Гитис Е. В. Бактериофаг молочнокислых бактерий — вредителей спиртового производства. Журнал «Спиртоводочная пром-сть», № 10, 14, 1938.

ОСНОВНЫЕ ФОРМЫ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ КЛЕВЕРА И ИХ КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ В РИЗОСФЕРЕ ПО ФАЗАМ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЯ И ГОДАМ ЕГО ЖИЗНИ

М. В. Федоров и *В. Ф. Непомилуев*

Микрофлора ризосферы клевера, несмотря на многочисленные работы, посвященные изучению ризосферных бактерий различных сельскохозяйственных растений, изучена очень слабо. Отдельные наблюдения над количественным и качественным составом ризосферных бактерий этого многолетнего растения имеются только в работах Красильникова [3], Жуковской и Теппер [2], Березовой и Рempe [1]. Из приведенных ими данных можно сделать вывод, что в ризосфере клевера преобладают неспороносные короткие палочки, образующие на МПА белые, блестящие колонии, флюоресцирующие голубым цветом, а также разные формы микобактерий, занимающие по широте своего распространения в ризосфере второе место. Малая изученность ризосферной микрофлоры клевера и послужила для нас основанием поставить специальные исследования по определению видового состава ведущих форм ризосферных бактерий данного растения в разные фазы его развития. Полученные при этих исследованиях результаты и излагаются ниже.

При изучении микрофлоры ризосферы клевера мы пользовались растениями с травяного поля полевой опытной станции Тимирязевской сельскохозяйственной академии (ТСХА). Растения выкапывались из почвы в разные фазы их развития и в разные годы их жизни. Кроме того, часть растений выращивалась в условиях вегетационного опыта с применением различных удобрений. Учет ризосферных бактерий производился методом последовательных отмываний корней. Седьмой отмыв производился в нашей модификации с кварцевым песком. После этого корни переносились в стерильную фарфоровую ступку и растирались также с кварцевым песком. Из каждого отмыва делались разбавления и высевались на МПА. Наиболее типичные формы ризосферных бактерий клевера были выделены нами в чистую культуру и идентифицированы.

Для данного растения ведущими представителями ризосферной микрофлоры оказались флюоресцирующие бактерии. Это были мелкие, подвижные, неспороносные палочки размером 1,0—2,5 × 0,6 μ. При росте на питательных средах они образовали зеленовато-желтый флюоресцирующий пигмент, который проникал в субстрат и окрашивал его в соответствующий цвет. Они хорошо развивались на многих питательных средах и по определителю Н. Красильникова должны быть отнесены к группе Pseudomonas fluorescens, хотя между различными штаммами их и наблюдались заметные различия. Наши штаммы № 2, 4, 15 разжижали желатину и давали углубленный рост при посеве уколом в МПА, а штаммы № 8, 10, 12 не разжижали желатины и при посеве уколом на МПА или желатине давали только поверхностный рост.

При росте на МПБ первые три штамма сильно окрашивали среду в желто-зеленый флюоресцирующий цвет, а последние три или совсем не окрашивали среды, или же окрашивали ее в слабо оражевый цвет с еле заметной флюоресценцией. Значительные различия между ними наблю-

дались и по отношению к источникам углерода. Первые три штамма совсем не росли на дульците и эритрите, а вторые хорошо развивались и на этих источниках углерода. Заметные различия между ними наблюдались и при использовании различных углеводов, а также азотистых соединений.

Первые три штамма хорошо развивались на органических и минеральных источниках азота, а последние три предпочитали среды с органическим азотом.

Другая группа ведущих ризосферных бактерий клевера была представлена короткими подвижными, неспороносными палочками, имеющими размеры клеток 1,0—2,0 × 0,5 μ. На МПА они давали выпуклые, блестящие колонии с ровным краем, окрашенные в желтый цвет. Бульон они окрашивали в желтый цвет, желатину не разжижали и молоко не свертывали. Они хорошо росли на многих питательных средах и энергично восстанавливали нитраты. На основании суммы признаков мы отнесли их к группе денитрифицирующих бактерий и по определителю Красильникова идентифицировали как Chromobact. denitrificans.

Третья группа ведущих ризосферных бактерий клевера была представлена короткими, подвижными, неспороносными палочками размером 1,5—2,0 × 0,5 μ. На препаратах палочки располагались одиночно или группами и имели закругленные концы клеток. Колонии этих бактерий на твердых питательных средах имели серовато-белый цвет и гладкую, блестящую поверхность, ровные края. При росте на бульоне они давали также желтую окраску среды. Желатину они не разжижали, молоко не свертывали и хорошо росли на средах с органическим и минеральным азотом. На синтетических средах они развивались только в том случае, когда в качестве источников углерода предоставлялись им сахара или же соли органических кислот.

Четвертая группа ризосферных бактерий клевера была довольно пестрой и поэтому подразделена нами на две подгруппы. В первую подгруппу мы отнесли два штамма (№ 5 и 6), представленные мелкими, иногда изогнутыми палочками, имеющими размеры тела 1,5—2,0 × 0,8 μ. При росте на МПА они изредка давали начальные фазы ветвления, но через 18—20 часов превращались в кокковидные формы. Колонии у этих бактерий были гладкие, блестящие и белого цвета. По поверхности агара они не растекались. Эти формы хорошо росли на органических и синтетических средах и легко усваивали органический и минеральный азот. По сумме признаков мы отнесли их к виду Mycobact. globiforme, хотя между выделенными нами штаммами и имелись некоторые различия. Штамм № 5, например, хорошо разжижал желатину и восстанавливал нитраты до нитритов, а штамм № 6 этими свойствами не обладал.

Вторая подгруппа была представлена также двумя штаммами (№ 24 и 25). Клетки этих бактерий имели палочковидную форму и обладали размерами 1,5—3,0 × 0,7 μ. Ветвление у них наблюдалось только в старых культурах, при росте на белковых средах. Колонии у них были окрашены в оранжевый цвет и имели круглую форму. Желатину они не разжижали, молоко не свертывали, крахмал не гидролизовали и в качестве источника углерода использовали соли различных органических кислот, а в качестве источника азота — органические и минеральные азотистые соединения.

По Граму эти формы красились положительно. На основании суммы признаков мы отнесли их к виду Mycobact. salivarium. Различия между имевшимися у нас штаммами сводились к тому, что штамм № 25 окрашивал МПБ в оранжевый цвет, а штамм № 26 — в оранжево-зеленоватый цвет.

Пятая группа ризосферных бактерий клевера имела также палочковидную форму своих клеток и размеры 1,3 × 0,7 μ. При росте на твердых питательных средах они давали колонии темносерого цвета с размытыми

краями и кратерообразной поверхностью. Эти формы легко разжижали желатину и плохо росли на синтетических средах, особенно в том случае, когда в качестве источника углерода предоставлялись соли органических кислот или же высокомолекулярные спирты. На средах с минеральными источниками азота они практически не развивались. Их видовую принадлежность нам не удалось точно установить, поэтому в дальнейшем они будут указываться под условным названием «бактерии, дающие белые узорчатые колонии».

Из приведенного описания ведущих форм ризосферных бактерий клевера можно видеть, что они не обладают большим разнообразием и представлены главным образом бесспоровыми подвижными палочками и микобактериями.

Распространение отдельных форм ризосферных бактерий в ризосфере клевера сильно менялось в зависимости от фазы развития растения. Учет широты их распространения производился нами в фазы весеннего отрастания, бутонизации, цветения и отрастания после укоса.

Растения для анализа брались нами на полях травопольного севооборота полевой опытной станции ТСХА.

Данные о количествах отдельных форм ризосферных бактерий на корнях растений, взятых в фазу весеннего отрастания (второй год жизни), представлены в табл. 1.

Таблица 1

Количество клеток основных форм ризосферных бактерий в ризосфере клевера в период весеннего отрастания в миллионах на 1 г корней

Название бактерий	Отмывы								Всего клеток
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Флюоресцирующие типа Pseud. fluorescens . .	1,2	1,1	0,9	1,0	1,8	1,0	1,2	1,5	8,7
Штаммы № 2, 4, 15 . .	0,5	0,4	0,6	0,6	0,7	0,8	1,1	1,1	5,8
Штаммы № 8, 10, 12	0,8	0,8	1,0	1,1	1,0	0,9	1,1	1,3	8,0
Денитрифицирующие типа Chromobact. denitrificans	0,6	0,6	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	1,0	5,2
Pseud. radiobacter . . .	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,5	2,2
Микобактерии	0,2	0,2	—	—	—	—	—	—	0,4
Бактерии, дающие белые узорчатые колонии	0,1	0,2	0,1	—	—	—	—	—	0,4
Bac. mycoides	0,1	0,2	—	—	—	—	—	—	0,3

Из приведенных данных легко установить, что ведущее место в ризосфере клевера в период его весеннего отрастания занимают флюоресцирующие и денитрифицирующие бактерии. Микобактерии в эту фазу представлены относительно слабо и встречаются только в первых отмывах. Общее количество бактерий в ризосфере также небольшое, что, видимо, связано с еще малой физиологической активностью растений. Об этом можно судить хотя бы потому, что в следующую фазу (бутонизации) ризосферная микрофлора клевера оказалась гораздо более многочисленной (табл. 2).

Ведущими формами в фазу бутонизации оказались также флюоресцирующие и денитрифицирующие бактерии. После них шли микобактерии и, наконец, Pseud. radiobacter. Общее количество бактерий, определяющихся при смывах с корня в эту фазу развития растений, почти в шесть раз превосходит количество их, определявшееся тем же методом в фазу весеннего отрастания. Помимо возрастания общего количества, наблю-

Таблица 2

Количество клеток основных форм ризосферных бактерий в ризосфере клевера второго года жизни в фазу бутонизации в миллионах на 1 г корней

Название бактерий	Отмывы								Всего клеток
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Pseud. fluorescens . . .	2,8	2,8	3,2	3,4	3,4	3,5	4,2	5,6	28,9
Штаммы № 2, 4, 15 . .	3,7	4,1	4,2	4,4	5,2	5,4	5,9	7,2	40,1
Штаммы № 8, 10, 12 . .	1,0	1,2	1,2	1,4	1,5	1,7	1,8	2,2	12,0
Chromobact. denitrificans	4,0	4,2	4,1	4,0	4,3	4,9	5,7	6,0	37,2
Pseud. radiobacter . . .	1,1	1,3	1,2	1,2	1,7	2,7	3,4	4,4	17,0
Mycobact. salivarium . .	2,4	2,3	2,3	2,5	2,7	2,8	3,5	3,9	22,4
	1,0	1,2	1,3	1,4	1,9	2,7	3,8	4,9	18,2
Бактерии, дающие белые узорчатые колонии	0,2	0,4	0,4	1,0	1,1	1,2	1,4	1,8	7,5

дались значительные изменения и в распределении их по отдельным отмывам. Если в фазу весеннего отрастания не было резкого различия между первыми и последними отмывами, то в фазу бутонизации эта разница резко проявлялась. Повидимому, в эту фазу роста растений количество корневых выделений было значительно больше и создавало благоприятные условия для развития на поверхности корня значительно большего количества ризосферных бактерий. Еще большее число клеток ризосферных бактерий было обнаружено нами в фазу цветения, что легко установить из данных табл. 3.

Таблица 3

Количество клеток основных ризосферных бактерий в ризосфере клевера второго года жизни в фазу цветения в миллионах на 1 г корней

Название бактерий	Отмывы								Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Pseud. fluorescens . . .	2,5	3,4	3,4	3,6	3,9	4,8	9,6	11,7	42,9
Штамм № 2	2,5	3,3	3,5	3,7	4,1	5,2	10,1	15,9	48,3
„ № 4	3,7	3,8	3,9	3,9	4,7	6,0	11,4	20,1	47,5
„ № 8	0,8	0,8	0,9	1,0	1,2	1,5	1,9	2,7	10,8
„ № 10	1,1	1,2	1,1	1,1	1,7	2,7	3,0	3,5	15,4
„ № 12	0,7	0,8	0,9	1,1	1,1	1,3	1,9	2,7	10,5
„ № 15	4,1	4,2	4,2	4,3	4,4	5,2	5,9	6,7	39,1
Chromobact. denitrificans	2,0	4,1	4,3	5,2	5,4	6,9	11,7	15,0	56,6
Pseud. radiobacter . . .	2,0	2,7	2,6	2,7	3,1	3,4	4,4	5,8	26,7
Mycobact. globiforme . .	2,3	2,2	2,3	2,3	2,4	2,7	2,9	3,2	20,3
Mycobact. salivarium . .	4,1	4,0	4,2	4,3	4,5	4,4	5,2	7,4	37,1

В фазу цветения микрофлора ризосферы клевера достигала своего максимального развития, хотя в видовом отношении и не наблюдалось особенно существенных отличий. Только бактерии, дающие белые узорчатые колонии, в эту фазу развития совсем отсутствовали. Ведущее место в эту фазу занимают флюоресцирующие и денитрифицирующие бактерии,

Таблица 4

Количество клеток основных форм ризосферных бактерий в ризосфере клевера в период отрастания после укоса в миллионах на 1 г корней

Название бактерий	Отмывы								Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Pseud. fluorescens . . .	1,7	1,2	1,4	1,5	1,9	1,9	2,2	2,7	14,5
Chromobact. denitricans	1,0	1,1	1,2	1,4	1,4	1,6	1,7	2,7	12,1
Pseud. radiobacter . . .	0,4	0,6	0,6	0,5	0,4	0,7	0,8	0,7	4,7
Бактерии, дающие белые узорчатые колонии	0,5	0,4	0,4	0,3	0,2	0,0	0,0	0,0	1,8

Таблица 5

Количество клеток основных форм ризосферных бактерий в ризосфере клевера в третьем году жизни растения по фазам развития в миллионах на 1 г корней

Название бактерий	Отмывы								Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	
I. Период весеннего отрастания									
Флюоресцирующие . .	0,6	0,5	1,0	1,2	1,2	1,3	1,5	1,7	9,0
Денитрифицирующие	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,6	1,0	1,0	4,7
Pseud. radiobacter . . .	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	1,3	2,6
Микобактерии	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,4	—	—	1,5
Бактерии, дающие белые узорчатые колонии	0,1	0,2	—	—	—	—	—	—	0,3
II. Фаза бутонизации									
Флюоресцирующие . .	2,7	2,9	2,9	3,1	3,2	3,4	3,6	4,1	25,7
Денитрифицирующие	2,1	2,0	2,0	2,2	2,4	2,5	2,9	3,2	19,3
Pseud. radiobacter . . .	0,4	0,4	0,6	0,6	0,7	0,7	1,0	1,5	5,9
Микобактерии	2,1	2,3	2,3	2,5	2,4	2,7	2,9	3,3	20,5
Бактерии, дающие белые узорчатые колонии	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	—	—	—	1,4
III. Фаза цветения									
Флюоресцирующие . .	4,1	4,0	4,2	4,2	4,3	4,4	4,6	5,8	35,6
Денитрифицирующие	2,4	2,5	2,6	2,6	2,7	2,9	3,0	3,1	21,8
Pseud. radiobacter . . .	0,5	0,6	0,7	0,7	0,9	1,0	1,2	1,5	7,1
Микобактерии	2,1	2,0	2,1	2,2	2,3	2,7	2,9	3,2	19,5
IV. Период отрастания после укоса									
Флюоресцирующие . .	1,0	1,2	1,4	1,6	1,7	1,7	1,9	2,5	13,0
Денитрифицирующие	1,0	1,0	1,1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,9	10,0
Pseud. radiodacter . . .	0,2	0,4	0,4	0,6	0,7	0,8	0,7	0,9	4,7
Микобактерии	0,4	0,2	0,4	0,5	0,1	0,2	0,3	0,4	2,5

а вслед за ними идут микобактерии, из которых наиболее широко представлены пигментные формы типа Mycobact. salivarium. Чрезвычайно обильное развитие ризосферных бактерий в эту фазу роста растения дает основание предполагать, что именно в это время физиологическая активность растения достигает своего максимума и количество органических веществ, выделяемых им через свою корневую систему, также достигает своего максимума. Но стоит только скосить клевер, как интенсивность всех этих процессов чрезвычайно сильно ослабляется, и количество бактерий, находимых в ризосфере клевера, сразу же сокращается в десятки раз, что легко установить из данных табл. 4.

В период отрастания после укоса микрофлора ризосферы клевера оказалась значительно беднее как в видовом, так и в количественном отношении. Основное место в этот период развития клевера занимают денитрифицирующие и флюоресцирующие бактерии. Кроме них, в составе ризосферной микрофлоры клевера в этот период вновь появились бактерии, дающие белые, узорчатые колонии, а микобактерии перестали обнаруживаться. Вероятной причиной таких изменений могло явиться то, что количество корневых выделений сократилось и повлекло за собой те изменения в составе микрофлоры, которые были выявлены последним анализом.

Изучение количественного и качественного состава типичной микрофлоры ризосферы было продолжено и в третьем году жизни клевера. Корни его получались путем выкапывания их из почвы травопольного севооборота полевой опытной станции ТСХА. Отмыв ризосферной микрофлоры производился тем же методом и в те же фазы развития растения. Анализы показали, что видовой состав микрофлоры ризосферы данного растения и в третьем году жизни мало чем отличается от микрофлоры второго года жизни. Повидимому, и в третьем году жизни растение обладает еще высокой физиологической активностью и, выделяя через свою корневую систему органические вещества, создает благоприятные условия для обильного развития ризосферных бактерий. Сводные данные по анализам третьего года жизни клевера приводятся в табл. 5.

Из приведенных данных легко установить, что и в третьем году жизни клевера распространение бактерий в его ризосфере осталось без особых изменений. Наибольшее количество их, как и в предыдущие годы, падает на фазу бутонизации и цветения и представлено теми же основными формами бактерий. Параллельное изучение ризосферной микрофлоры клевера, выращиваемого в условиях вегетативного опыта, по разным фонам удобрений показало, что и в этом случае особых различий не наблюдается. И при этих условиях выращивания ризосферная микрофлора имеет тот же видовой состав.

Выводы

1. Ризосферная микрофлора клевера резко отличается от почвенной микрофлоры и представлена по преимуществу неспороносными бактериями. В свой состав она включает как специфические формы, так и формы, общие с другими растениями.

2. Количество клеток ведущих ризосферных бактерий у клевера меняется по годам жизни и фазам его развития. Наибольшее количество клеток приходится на фазу бутонизации и цветения. В фазы же весеннего и осеннего отрастания число клеток ризосферных бактерий, приходящихся на 1 г корней, резко падает. Растения полевой культуры и растения, выращенные на той же почве в условиях вегетационных сосудов, особых различий в составе своей ризосферной микрофлоры не имеют.

3. Наиболее широко представленными в ризосфере клевера оказались флюоресцирующие бактерии типа Pseud. fluorescens, денитрифицирую-

щие бактерии типа Chromobact. denitrificans, микобактерии типа Mycobact. globiforme и бактерии типа Pseud. radiobacter.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева

Получено 15.IX. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Е. Ф. и Ремпе Е. Х. Корневая микрофлора многолетних трав. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 1, 1950.
2. Жуковская П. Н. и Теппер Е. З. Изучение микрофлоры ризосферы овса, клевера и картофеля методом последовательных отмываний корней. Тр. ТСХА, вып. 4 1949.
3. Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на микробный ценоз в почве. Микробиология, XIII, 187, 1944.

СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ В РАЗЛИЧНЫХ ШТАММАХ AZOTOBACTER CHROOCOCCUM ИЗ ПОЧВ СИБИРИ

Г. Н. Блинков

Вопрос о содержании белка в культурах азотобактера исследовался рядом авторов. Результаты этих исследований показывают, что у Azotobacter chroococcum содержание белка колеблется в широких пределах. Оно прежде всего зависит от способа выращивания культуры. Очень высоко содержание белка в культурах азотобактера, собранных с жидких сред, и низко в культурах, собранных с плотных сред. На сухую массу при первом способе выращивания, по данным Герлах и Фогель (Gerlach u. Vogel [3]) белка (N × 6,25) содержится 75—80% и, по данным Штоклаза (Stoklasa [5]),— 70%, а при втором способе выращивания, по данным Омелянского и Зибер (Омелянский [2]),— около 13%.

Низкое содержание белка в культурах, выращенных на плотных средах, Омелянский объясняет тем, что в этих случаях клетки азотобактера покрыты объемистой слизистой капсулой, состоящей из безазотистых веществ.

Грин (Greene [4]) выяснил, что в культурах, собранных с агаровых сред, содержание белка резко варьирует в зависимости от вида азотобактера. По его данным, белка (N × 6,25) содержат: Az. beijerinckii — 24,68%, Az. chroococcum — 25,00%, Az. vinelandii — 56,25% и Az. agile — 61,19%. Безазотистые вещества с белком находятся в обратных соотношениях. Приведенные данные являются новым доказательством близкого родства между Az. beijerinckii и Az. chroococcum, между Az. vinelandii и Az. agile. Эти данные вместе с тем согласуются и с цитологическими особенностями указанных видов, так как известно, что на плотных средах клетки первых двух видов покрываются безазотистой слизистой капсулой, а другие два вида такой капсулы не образуют (Красильников [1]).

Существуют ли различия в содержании белка между отдельными разновидностями или штаммами одного и того же вида, этот вопрос еще не исследовался. Ему и посвящается данная работа.

Экспериментальная часть

Для работы использовано шесть штаммов азотобактера, выделенных автором из различных почв Сибири и отличающихся друг от друга по своей азотфиксации и морфологическим свойствам, особенно по консистенции культуры (см. таблицу). Продуктивность их азотфиксации колеблется в пределах от 8,17 до 11,15 мг на 1 г использованной сахарозы. Колонии одного штамма (№ 167_2) имеют консистенцию густого клейстера, гладкую поверхность и не пигментируются; колонии всех других штаммов имеют консистенцию пасты различной густоты, складчатую поверхность и при старении пропитываются черным или коричневым, не проникающим в субстрат пигментом.

Пигментирующиеся штаммы безусловно являются представителями вида Az. chroococcum, но к этому же виду, в соответствии с определителем Красильникова [1], должен быть отнесен и непигментирующийся штамм № 167_2, так как его клетки содержат блестящие зерна и инцистируются, что характерно только для Az. chroococcum.

Кроме сибирских штаммов, использован еще в качестве контроля лабораторный штамм Az. chroococcum № 54.

Культуры выращивались в стерильных условиях на агаровых пластинках со средой Омелянского и Северовой при 26°. Чистота их контролировалась путем тщательного микроскопирования. Использовались молодые полуторасуточные и вполне зрелые, уже хорошо пигментирующие, культуры в возрасте 5 суток. Бактериальная масса снималась при помощи изогнутой под прямым углом стеклянной палочки; при этом принимались все меры предосторожности, чтобы в нее не попадали частицы агаровой среды. Собранная масса высушивалась в выпаривательных чашках при 100° и затем тщательно растиралась в ступке до состояния тончайшего порошка.

Порошкообразная масса культуры доводилась до воздушно-сухого состояния, и после этого в ней определялся общий азот по Кьельдалю в четырехкратной повторности. Средние данные в пересчете на белок (N × 6,25) приводятся в таблице, в которой одновременно даются сведения о продуктивности азотфиксации исследуемых штаммов, их морфологических особенностях и происхождении.

Таблица

Содержание белка в культурах азотобактера в процентах от абсолютно сухого веса

№ штамма	% белка при разном возрасте			Характеристика штаммов и их происхождение			
	5,0 сут.	1,5 сут.	разность	продуктивность азотфиксации	консистенция колоний на агаровых средах	пигментация	из какой почвы выделены
54	29,94	22,56	7,38	9,60	Умеренно густой пасты	Коричневая	Лабораторный штамм
112	30,73	23,72	7,01	10,05		Черная	Темносерая лесная Красноярского края
36	30,61	23,37	7,34	11,05		Темно-коричневая	Серая лесная Томской обл.
11	33,93	25,98	7,95	11,15	Очень густой пасты	То же	Солончак Красноярского края
58	34,38	26,00	8,38	8,17		Черная	Каштановая содово-засоленная Алтайского края
45	24,52	18,93	5,59	10,73	Очень рыхлой пасты	То же	Луговая лесная Томской обл.
167_2	26,44	17,59	8,85	9,20	Густого клейстера	Не пигментируется	Луговой солончак Новосибирской обл.

Данные таблицы показывают, что в зрелых культурах Az. chroococcum, выращенных на агаровых средах, содержание белка колеблется в зависимости от штамма в пределах от 24,52 до 34,38% (см. штаммы № 45 и 58), т. е. почти на 10%. При этом минимальное количество белка, по данным автора, совпадает с количеством белка для Az. beijerinckii и Az. chroococcum согласно приведенным данным Грина.

В молодых культурах азотобактера белка содержится значительно меньше, чем в зрелых культурах: между культурами полуторасуточного и пятисуточного возраста разница составляет 5,59—8,85% (штаммы № 45 и 167_2). Из этого следует, что в зрелых культурах содержатся не только конституционные, но и запасные азотистые вещества.

Определенная связь наблюдается между содержанием белка и консистенцией культуры азотобактера: наивысшее количество белка содержится в наиболее плотных культурах (№ 11 и 58) и наименьшее — в наиболее рыхлых культурах (№ 45).

Многочисленные наблюдения автора показывают, что подавляющее большинство штаммов типичного Az. chroococcum на агаровых средах имеет консистенцию умеренно густой пасты, а следовательно, такую консистенцию и соответствующее ей содержание белка, составляющее примерно 30%, и следует считать «нормальными» (№ 54, 112, 36).

Процентное содержание белка в культуре азотобактера ни в какой мере не соответствует продуктивности ее азотфиксации, т. е. количеству усвоенного азота в миллиграммах на 1 г окисленного углевода. Это особенно наглядно иллюстрируется на примере штамма № 58, который обладает самым высоким содержанием белка и самой низкой продуктивностью азотфиксации.

С пигментацией культуры азотобактера содержание белка тоже не связано; это видно из того, что одинаково окрашенные штаммы по содержанию белка резко расходятся (№ 112, 58 и 45).

Содержание белка не зависит и от географического происхождения штаммов; таблица показывает, что оно может быть сходным у штаммов из различных типов почв (№ 45 и 167_2) и, наоборот, резко различным у штаммов из однотипных почв (№ 11 и 167_2).

Выводы

1. В зрелых культурах Azotobacter chroococcum, выращенных на агаровых средах, содержание белка колеблется в зависимости от штамма в пределах от 24,52 до 34,38% на абсолютно сухой вес.

2. Молодые полуторасуточные культуры азотобактера содержат белка значительно меньше, чем вполне зрелые культуры в возрасте пяти суток; разница составляет 5,59—8,85%. Из этого следует, что по мере созревания культуры в ней накапливаются запасные азотистые вещества.

3. Содержание белка определенно связано с консистенцией культуры азотобактера: наивысшее количество белка содержится в наиболее плотных культурах и наименьшее — в наиболее рыхлых культурах.

4. Для Az. chroococcum «нормальными» следует считать консистенцию умеренно густой пасты и соответствующее ей содержание белка, составляющее примерно 30% от абсолютно сухого веса культуры.

5. Процентное содержание белка в культуре азотобактера совершенно не соответствует продуктивности ее азотфиксации. Это наглядно подтверждается тем, что некоторые штаммы при самой низкой продуктивности азотфиксации обладают самым высоким содержанием белка.

6. От географического происхождения штаммов азотобактера содержание белка тоже не зависит: оно может быть сходным у штаммов из различных типов почв и резко различным у штаммов из однотипных почв.

Томский государственный
педагогический институт

Получено 13. I. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР, М., 1949.
2. Омелянский В. Л. О составе тел Azotobacter chroococcum. Избранные труды, т. I, стр. 285, 1953.
3. Gerlach M. u. Vogel J. Stickstoffsammelnde Bakterien. Ztbl. Bakt., 2. Abt., 8, 669, 1902.
4. Greene R. Studies on protein synthesis by the genus Azotobacter. Soil Sci., 39, 327, 1935.
5. Stoklasa I. Beiträge zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter. Ztbl. Bakt., 2. Abt., 21, 484, 1908.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ АЗОТОБАКТЕРА В ПОЧВАХ БОЛГАРИИ

Ж. Войнова-Райкова

Многочисленные исследования советских микробиологов показали большое значение азотобактера для обогащения почвы азотом. Нами были произведены исследования по выяснению распространения азотобактера в главных почвенных типах Болгарии.

Устанавливая наличие или отсутствие азотобактера в почве, мы стремились выяснить условия, благоприятствующие его интенсивному развитию.

Методика

Исследованиями С. П. Костычева, Красильникова [5] и ряда других авторов установлено, что растения своими корневыми выделениями стимулируют или угнетают развитие азотобактера. Основываясь на этих данных, мы исследовали влияние различных культурных растений на развитие азотобактера. Опыты ставились на образцах, характерных для почвенных типов Болгарии, установленных специалистами Почвенного института Болгарской академии наук. Исследования производились в мае и июне, когда почвенная влажность благоприятна и деятельность микробов наиболее активна. Для определения влияния растений на развитие азотобактера нами брались почвенные пробы из ризосферы растений во время их цветения, когда, по мнению Красильникова, они оказывают наиболее сильное влияние на развитие азотобактера. Пробы исследовались нами не позже двух-трех дней после их взятия, причем одновременно устанавливалась и влажность почвы. Наличие азотобактера в почве мы регистрировали методом почвенных комочков на питательной среде Эшби и одновременно методом почвенных пластинок [12].

Азотобактер дифференцировался нами по пигментации колоний, по форме и размерам клеток, определенных микроскопически, а также и по способности использовать различные источники углерода. Кроме того, определялось влияние наличия фосфора и кальция в почве на развитие азотобактера.

Исследованиями Красильникова [6] и Мишустина [8] установлено, что на развитие азотобактера оказывают влияние также и взаимоотношения его с находящимися в почве другими микроорганизмами, в частности с его антагонистами. Для определения токсичности данной почвы по отношению к азотобактеру комочки этой почвы помещались в чашки Петри, предварительно засеянные азотобактером. По величине ореола около почвенного комочка, в котором азотобактер не развился из-за действия антагонистических веществ почвы, мы определяли токсичность последней. В некоторые почвы мы вносили определенные количества культуры азотобактера и устанавливали через каждые три-четыре дня его выживаемость в соответствующей почве.

Азотобактер в почвенных типах Болгарии

Согласно данным Антипова-Каратаева [1] и Герасимова [3], распространение почвенных типов в Болгарии подчиняется определенной географической закономерности. Параллельно Дунаю распространены черноземные почвы, которые распадаются на подтипы: карбонатный, типичный,

выщелоченный и оподзоленный. К югу от них, в направлении Балканских гор (Стара Планина), на высоте до 600 м преобладают серые лесные почвы: светлосерые, серые и темносерые. Выше этой линии, в зоне буковых и хвойных лесов, в горных районах всей страны распространены бурые лесные почвы. В южной Болгарии главным образом развиты коричневые почвы: типичные выщелоченные, оподзоленные и лугово-коричневые. Кроме того, в южной, юго-западной и северо-западной Болгарии встречается в довольно значительных размерах почвенный тип — смолница, который в Югославии исследован и описан Стебутом [10], а в Болгарии Ив. Странским [11].

Отдельными пятнами (главным образом в южной Болгарии) встречаются соленые почвы — солончаки и солонцы, в пониженных местах — луговые и лугово-болотные, около рек — аллювиально-болотные, а на карбонатных породах — гумусно-карбонатные почвы.

Некоторые из этих почвенных типов мы исследовали на присутствие азотобактера, при этом более подробные исследования до настоящего времени сделаны нами для южной Болгарии, которая отличается большим почвенным разнообразием.

Таблица 1

Азотобактер в почвах Добруджи

(Количество комочков, обросших азотобактером, в %)

Почвенный тип	Глубина в см				
	0—10	20—30	30—40	40—50	60—70
Типичный чернозем	85	80	30	10	0
Слабовыщелоченный чернозем . . .	100	50	25	0	0
Выщелоченный чернозем	0	0	0	100	80
Сильновыщелоченный чернозем . .	0	0	0	0	0
Темносерая лесная почва	0	0	0	0	0
Серая лесная почва	0	0	0	0	0

Наши исследования показывают наличие азотобактера в черноземах Добруджи, причем самыми богатыми в этом отношении являются типичные и слабовыщелоченные черноземы. Условия развития азотобактера в типичном и слабовыщелоченном черноземах значительно улучшаются при удобрении последних фосфором. В слабовыщелоченном черноземе развитие азотобактера идет более энергично, чем в типичном черноземе, где гумус прочно связан с карбонатами и где нет свободных органических веществ. Усиление процесса выщелачивания черноземов сопровождается уменьшением количества азотобактера в поверхностных горизонтах почвы и увеличением его количества в зоне аллювиального горизонта. Например, в черноземе с. Поп-Груево (район Балчик) до 50 см глубины нет азотобактера, в то время как ниже, до глубины 80 см, последний развивается чрезвычайно энергично. При усиленном выщелачивании и опускании карбонатов на значительную глубину аллювиальный горизонт достигает до глубины 120 см и задерживающим фактором для развития азотобактера является отсутствие достаточной аэрации. Поэтому в аллювиальном слое азотобактер отсутствует.

В лабораторных условиях внесение в почву фосфора и кальция благоприятствует развитию азотобактера. Таким образом, условия для развития азотобактера в черноземах улучшаются при удобрении последних фосфором и кальцием.

Темносерые и серые лесные почвы по карте-схеме Герасимова [3] и Антипова-Каратаева [1] являются преобладающими почвами в северной Болгарии. В целинных местах этих почв мы не обнаружили азотобактера. В них более сильно проявляется процесс оподзоливания. Питательные вещества вынесены в нижние горизонты, и это обстоятельство мешает развитию азотобактера. Окультуривание почв способствует его развитию. Так как почва не токсична в отношении азотобактера, то агротехнические мероприятия, повышающие агрономические ее свойства, приводят и к обогащению ее азотобактером.

Южная Болгария характеризуется большим почвенным разнообразием. Там преобладают коричневые почвы и смолницы, а в более высоких, горных районах — бурые лесные и горно-луговые почвы.

Для определения наличия азотобактера в коричневых почвах нами исследованы районы Пловдив, Хасково и Асеновград. В типичных коричневых почвах во всех случаях мы констатировали обильное развитие азотобактера, особенно в поверхностных горизонтах. Слабовыщелоченная коричневая почва также богата азотобактером. При более сильном выщелачивании азотобактер развивается не в поверхностном, а в аллювиальном горизонте, и при этом в больших количествах.

Таблица 2

Наличие азотобактера в коричневых почвах района Пловдив

(Количество комочков, обросших азотобактером, в %)

Тип почвы	Глубина в см				
	0—10	20—30	30—40	40—50	60—70
Типичная коричневая лесная	50	35	30	0	0
Слабовыщелоченная	90	100	90	75	0
Выщелоченная	10	0	0	65	20
Оподзоленная	15	0	0	0	0

Сильновыщелоченные коричневые почвы не содержат азотобактера. Приведенные данные относятся к целинным местам; что касается пахотных земель, принадлежащих к вышеупомянутым почвенным типам, то количество азотобактера там значительно больше, особенно в пахотном горизонте окультуренных почв. Из всех коричневых почв, анализированных нами, был изолирован Azotobacter chroococcum с пигментом, который и при старении культуры оставался красновато-желтым.

Значительную часть территории южной и юго-западной Болгарии занимают смолницы. Целинные смолницы, особенно в районе г. Софии, не содержат азотобактера. При применении высокой агротехники и в районе Хасково в пахотном горизонте появляется Azotobacter chroococcum, образующий колонии, окрашенные в темнокоричневый до черного цвет. В больших количествах азотобактер обнаружен нами в поверхностном горизонте выщелоченной коричневоподобной смолнице (по Койнову) в районах Хасково и Асеновград. Препятствием к развитию азотобактера в смолницах является малое содержание в них фосфора, а также и то, что в межплоскостных пространствах кристаллов глинистых минералов нонтранитово-монтмориллонитовой группы, участвующих в формировании этих почв, зафиксированное органическое вещество становится труднодоступным для разложения микроорганизмами (Антипов-Каратаев).

Высокая агротехника (по образцам из района Хасково) и травяные смеси (по образцам из района Софии) создают благоприятные условия для появления и развития азотобактера.

Хлопчатник даже при удобрении не благоприятствует развитию азотобактера в смолницах.

В лугово-коричневых почвах, которые имеют важное значение для земледелия южной Болгарии, мы констатировали развитие азотобактера в целинных почвах, а особенно энергичное на окультуренных пахотных, удобряемых и орошаемых участках. Обильное развитие азотобактера в них имеет место до глубины 50 см. Лугово-коричневые почвы с более легким механическим составом отличаются большим содержанием азотобактера. При выщелачивании лугово-коричневых почв количество азотобактера в поверхностных горизонтах уменьшается, а в аллювиальных увеличивается.

Таблица 3

Наличность азотобактера в лугово-коричневых почвах и смолницах

(Количество комочков, обросших азотобактером, в %)

Тип почвы	Глубина в см				
	0—10	10—20	20—30	30—40	50—60
Лугово-коричневая (район Асеновград)	90	100	20	15	0
Выщелоченная лугово-коричневая (район Асеновград)	35	25	10	100	90
Смолница (район Асеновград)	45	15	10	0	0
Выщелоченная смолница (район Асеновград)	100	90	80	0	0
Смолница (район Хасково)					
а) целина	10	0	0	0	0
б) пахотная	100	100	55	10	0
в) под хлопчатником	0	0	0	0	0

Азотобактер и здесь, как и в коричневых почвах, имеет красновато-желтую пигментацию колоний. Морфологические исследования дают основание отнести его к виду Azotobacter chroococcum, характерному для этих почв.

Оподзоленные коричневые почвы, которые в Болгарии встречаются совсем редко (с. Леново, район Асеновград), не содержат азотобактера.

Аллювиально-луговые почвы, распространенные главным образом в речных долинах, богаты Azotobacter chroococcum с колониями, имеющими характерную темнокоричневую до черной пигментацию. Лугово-заболоченные почвы (разрезы районов Пловдив, Асеновград и Хасково) богаты азотобактером, количество которого при окультуривании этих почв сильно увеличивается.

Бурые лесные почвы, занимающие высокогорные части территории страны и покрытые преимущественно лесами, не всегда содержат азотобактер. В этих почвах азотобактер если и встречается, то в небольших количествах. Так, процент обрастания комочков азотобактером равен в почвах под буком 10, под сосной — 20. Эти данные установлены по почвенным образцам, собранным в поселке Юндол района Велинград.

Нами были исследованы на присутствие азотобактера и несколько пятен засоленных почв района Пловдив. В засоленных почвах, содержащих бикарбонаты, азотобактер развивается энергично, в почвах, содержащих хлориды, он отсутствует (табл. 4).

В исследованных бикарбонатных солонцах (Ил. Воденичаров) азотобактер развивается весьма энергично. Колонии, даже и при старении, остаются белыми или приобретают серый цвет, а не черный, как это наблюдается в рассоленной, окультуренной почве, находящейся на близком расстоянии от бикарбонатного солонца.

Таблица 4

Наличие азотобактера в засоленных почвах района Пловдив

(Количество комочков, обросших азотобактером, в %)

Тип почвы	Глубина в см				
	0—10	10—20	20—30	30—40	40—50
Солонец	0	0	0	0	0
Солонец солончаковатый	0	0	0	0	0
Сульфатно-бикарбонатный солонец	100	100	80	83	40
Бикарбонатный солонец	100	100	100	82	31
„ „	100	100	0	0	0
Осолонцованная, рассоленная, окультуренная	100	100	75	60	30

Микроскопически Azotobacter chroococcum в засоленных почвах представлен более крупными клетками, с хорошей азотфиксацией. Физиологические, а также морфологические признаки дают основание предполагать, что это var. Beijerincki (по Красильникову [6]).

В перегнойно-карбонатных почвах (районы Пловдив и Хасково) азотобактер особенно обильно развивается при окультуривании этих почв.

Азотобактер в ризосфере культурных растений

Для проверки влияния наиболее важных культурных растений на распространение азотобактера нами были исследованы образцы почв, взятые как из ризосферы этих растений, так и вне ее. Эти исследования были проведены с наиболее важными почвенными типами страны.

Ранее нами было установлено [2], что люцерна, травяная смесь (люцерна и райграс), клевер и вика стимулируют развитие азотобактера. Это установлено нами на ряде почвенных типов: смолнице, коричневой, аллювиально-луговой почвах и черноземе. Фасоль, соя, арахис также способствуют развитию азотобактера в почве. Таким образом, многие травосмеси, в особенности с бобовым компонентом, способствуют увеличению количества азотобактера в почве.

Нами установлено, что кукуруза, картофель и сахарная свекла на коричневой, лугово-коричневой, аллювиально-луговой и черноземной почвах оказывают благоприятное воздействие на развитие азотобактера. Пшеница и хлопчатник на коричневых, лугово-коричневых, аллювиально-луговых почвах и смолницах оказывают угнетающее влияние на развитие азотобактера.

Азотобактер в ризосфере табака

Более подробно нами исследовалось влияние табака на развитие азотобактера. Эта культура представляет интерес ввиду того, что минерально-азотное удобрение ее связано с известными трудностями; особенно это проявляется у восточных табаков, так как при внесении высоких доз азота ухудшается их качество. При первых наших исследованиях мы столкнулись с тем, что почва полей, занятых табаком, богаче азотобактером, чем почва полей под другими культурами. Это было нами установлено в районе Пещера, Хасково и Момчилград.

При более систематических наблюдениях по сезонам были установлены известные закономерности, связанные с развитием азотобактера в ризосфере табака (табл. 5). Во время вегетации табака количество азо-

Таблица 5

Влияние минеральных удобрений на развитие азотобактера в почве табачных плантаций

(Количество комочков, обросших азотобактером во время цветения табака 15.VIII.1952 г., в %)

№ и вариант опыта	Количество азотобактера	
	почва из ризосферы	почва из междурядий
1. Стандартная густота	5	0
2. Стандартная густота с омоложенной рассадой	17	0
3. Стандартная густота при высоких дозах удобрений и омолаживании рассады	0	0
4. Максимальная густота при нормальной рассаде, без удобрения	10	5
5. Максимальная густота при высоких нормах удобрений и нормальной рассаде	0	0
6. Максимальная густота при высоких нормах удобрений и омолаживании рассады	0	0
7. Максимальная густота при официально рекомендованных нормах удобрения и при нормальной рассаде	22	12
8. Максимальная густота при высоких дозах фосфора и калия и нормальной рассаде, зараженной азотобактером	100	30

тобактера изменяется по сезонам, уменьшаясь в летние месяцы. Во всех рассмотренных нами случаях количество азотобактера в почве из ризосферы табака всегда было больше, чем в междурядьях.

Опыты по определению влияния удобрений на азотобактер в почвах под табаком проводились на опытной станции с. Джебел района Момчилград. В одном из вариантов опыта удобрения под табак вносились в три срока в количестве: аммиачной селитры — 75 кг, суперфосфата — 200 кг, сернокислого калия — 60 кг на 1 га.

Максимальные дозы упомянутых удобрений в опыте достигали следующих размеров: аммиачной селитры — 200 кг, суперфосфата — 900 кг, сернокислого калия — 400 кг на 1 га.

В отношении подготовки рассады были представлены варианты нормальной и омоложенной [1] рассады. В отношении густоты посадки были обследованы варианты с расстоянием в 30 см между рядами и 10 см в рядах, что составляет 330 000 растений на 1 га, а также варианты с шахматной посадкой при максимальной густоте растений — 30 см между рядами и 8 см в рядах, что составляет 490 000 растений на 1 га. Результаты этих опытов приведены в табл. 5.

Почва под опытной делянкой в момент высадки табака не отличалась изобилием азотобактера — процент обрастания почвенных комочков азотобактером был 40. В период цветения, в августе 1952 г., количество азотобактера сильно уменьшилось, а в почве вне ризосферы он исчез. Азотобактер сохранился, хотя и в незначительных количествах, в почве ризосферы табака, при стандартной густоте и омолаживании рассады. Это можно объяснить тем, что омолаживание способствует усиленному развитию корневой системы табака, которая своими выделениями стимулирует развитие азотобактера. Влияние корней табака при максимальной густоте его посадки отражается на количестве азотобактера в междурядьях, в сторону незначительного увеличения. Исключение составляют случаи при внесении высоких доз удобрений.

При удобрении табака по нормам, установленным и рекомендованным

[1] В болгарской народной практике табачная рассада омолаживается путем удаления ее верхушки.

Министерством земледелия (75 кг аммиачной селитры, 200 кг суперфосфата и 60 кг сернокислого калия на 1 га, внесенные в три срока), наблюдается несколько более высокое содержание азотобактера в ризосфере, даже в те периоды, когда азотобактер отсутствует в почве опытных делянок. Следовательно, при этих нормах не только не наблюдается вредное влияние аммиачной селитры на азотобактер, но такие дозы даже помогают его развитию.

При переходе к высоким нормам удобрений (вариант 3, табл. 5) с повышенным содержанием фосфора, из-за вредного влияния аммиачной селитры (норма — 200 кг на 1 га) азотобактер исчезает и в междурядьях, и в ризосфере табака. Таким образом, внесение высоких доз аммиачной селитры не только ухудшает качество табака, но и угнетает развитие азотобактера.

При внесении азотобактера в почву вместе с рассадой он полностью сохраняется в ризосфере табака до конца опыта.

При повторном опыте с теми же вариантами в 1953 г. на делянке, богатой азотобактером (100% энергично развивающегося азотобактера), мы установили, что высокие дозы удобрений не только вызывают уменьшение количества азотобактера и азотфиксирующей его способности, но и угнетают его рост. Так, например, штамм азотобактера, изолированного из почвы, удобренной высокими нормами аммиачной селитры, фиксирует 5 мг азота на 1 г израсходованной глюкозы, против 11—13 мг азота на 1 г глюкозы при штамме, изолированном из почвы, не удобренной, и из почвы, удобренной только фосфором и калием. Отсюда следует, что азотобактер находит благоприятные условия для своего развития в ризосфере табака, но удобрение высокими дозами аммиачной селитры угнетает его. Отрицательное действие аммиачной селитры не устраняется даже при внесении высоких доз фосфорнокислых удобрений.

Азотобактер в ризосфере риса

Мы исследовали влияние культуры риса на развитие азотобактера. Нас интересовало, находится ли азотобактер в естественном состоянии в рисовых полях и какие изменения происходят с ним при затоплении рисовых полей. Исследования Гущина [4, 9] показывают, что при затоплении водой в почве под рисом микробиологические процессы ослабевают и количество азотфиксирующих бактерий уменьшается в четыре раза. Эпель (см. Сушкина [12]), напротив, считает, что в постоянных рисовых полях в Индии снабжение риса азотом происходит благодаря азотфиксирующей способности азотобактера.

При сезонном исследовании рисовых полей нами было констатировано, что в условиях Болгарии число азотобактера в почве увеличивается в период усиленной вегетации риса, при непрерывном затоплении рисовых полей от посева и почти до уборки. При этом новые рисовые поля, т. е. такие, на которых впервые сеется рис, часто значительно беднее азотобактером, чем более старые рисовые поля, обычно богатые азотобактером (табл. 6).

На рисовых полях, независимо от почвенного типа, мы всегда констатировали большие количества азотобактера. Чтобы проверить, оказывают ли влияние различные сорта риса на распространение азотобактера, мы исследовали образцы почв, а также несколько сортов риса и гибрида Д, $Д_1$, $Д_2$ с рисового опытного поля Института «Марица» в г. Пловдив, которые находились в одинаковых условиях развития. Разницу в количестве азотобактера мы не наблюдали. Отсюда следует, что тип почвы и сорт риса не являются решающим фактором.

Для установления влияния различных способов орошения риса на развитие азотобактера мы провели сезонные исследования при различных вариантах орошения риса (табл. 7).

Данные, полученные в июле, т. е. в момент колошения риса, позволяют вывести следующие заключения.

При десятидневном затоплении и десятидневном осушении найдено 66% почвенных комочков, проросших азотобактером.

Таблица 6

Возраст рисовых полей в районе города Пловдив и количество азотобактера

(Количество комочков, обросших азотобактером, в %)

Местонахождение	Непрерывная культура риса в продолжение ряда лет	Количество азотобактера в фазе колошения риса (июль)
с. Белозем	1	20
» »	2	70
» »	3	100
» »	4	100
с. Радиново	2	80
» »	3	100
» »	4	100
с. Граф Игнатьево	1	8
» » »	2	92

При поливе риса без затопления подобных почвенных комочков 22%, при варианте — без опреснения воды — 12%, а при обыкновенном поливе, т. е. при затоплении медленно движущейся водой,— 86% почвенных комочков, проросших азотобактером в период колошения риса. Таким образом, при одних и тех же почвенных условиях и одном и тем же сорте риса развитие азотобактера на рисовых полях колеблется чрезвычайно сильно в зависимости от способа орошения, причем лучший способ, способствующий развитию азотобактера на рисовых полях,— это орошение медленно движущейся водой. Полив с чередованием десятидневного затопления и десятидневного осушения тоже благоприятствует развитию азотобактера, хотя и в меньшей степени. При этом варианте рис развивается немного слабее, корневых выделений в почве меньше, влажность почвы рисового поля ниже, а все это отражается отрицательно на развитии азотобактера, вызывая уменьшение его количества. При варианте — полив без затопления — количество азотобактера в почве резко снижается — до 22%, приближаясь в этом отношении к почве, не занятой культурой риса. Количество почвенных комочков, проросших азотобактером, при затопле-

Таблица 7

Влияние способов орошения риса на количество азотобактера

(Количество комочков, обросших азотобактером, в %)

Способ полива	При посеве риса (май)	При выколашивании (июль)	При уборке (сентябрь)
10 дней затопления	20	66	70
10 дней осушения			
Полив без затопления	20	22	25
Без опреснения воды	20	12	20
Затопление при медленном движении воды	20	86	100

нии риса без опреснения воды падает до 12%. Следовательно, не только рис, но и целый комплекс условий, создающихся на рисовых полях, влияет на развитие азотобактера. Лучшим способом поливки риса, благоприятствующим развитию азотобактера, является полив слабопроточной водой.

Продолжительное пребывание риса под водой в течение еще двух месяцев после колошения не оказывает угнетающего действия на развитие

азотобактера. Напротив, во всех случаях мы установили увеличение процента проросших азотобактером почвенных комочков. При этом самое большое увеличение наблюдается при затоплении риса слабопроточной водой. Факт увеличения количества азотобактера с момента посева риса до его уборки, т. е. в продолжение четырех месяцев, очень интересен, если иметь в виду, что азотобактер является аэробным микробом. Возможно, что значительное увеличение количества азотобактера при непрерывном затоплении риса водой объясняется снабжением азотобактера кислородом из воды. Но и в этом случае рисовый азотобактер нужно отнести к категории организмов, ограниченно снабжающихся воздухом (олигоаэробных, по Ив. Странскому), тем более, что разные слои воды на рисовых полях движутся с неодинаковой скоростью. Если исключить поверхностные 2—3 см, где скорость движения воды уменьшается вследствие сопротивления воздуха, то на глубине более 3 см скорость движения воды самая большая.

С углублением и приближением к поверхности почвы скорость движения воды становится слабее и в слое, соприкасающемся с почвой, снабжение кислородом будет хуже. Еще хуже будет снабжаться кислородом почвенный пласт, где развивается и азотобактер.

При слабо текущей воде, когда на рисовых полях все же происходит снабжение кислородом, количество последнего все-таки будет несравненно меньше, чем в сухой почве. Можно предположить, что в данном случае мы или имеем дело с олигоаэробной разновидностью азотобактера, не отличающейся по своим морфологическим признакам от Azotobacter chroococcum, или что азотобактер снабжается кислородом не только из воды, но и другим способом, например из корней риса или сорной растительности, которая в большом количестве встречается на рисовых полях Болгарии. Этот вопрос нами еще не выяснен.

Мы проследили развитие азотобактера на новых рисовых полях северной Болгарии, а именно: в городах Левски, Свищов и в селах Велич-

Таблица 8

Азотобактер в рисовых полях северной Болгарии

(Количество комочков, обросших азотобактером, в %)

Взятие проб почвы	Посев риса (май)	Колошение риса (июль)	Уборка (сентябрь)
г. Левски			
а) рисовое поле	90	100	100
б) пастбище около рисового поля	5	0	5
г. Свищов			
а) рисовое поле	95	100	100
б) люцерна	90	70	100
район Сталин			
1) с. Величково			
а) посев без предварительного затопления	80	100	100
б) посев с предварительным затоплением	60	100	80
2) с. Старо-Орехово			
а) рисовое поле 1-го года . . .	75	100	100
б) рисовое поле 2-го года . . .	85	100	100

ково и Ст. Оряхово (район Сталин). В табл. 8 приводятся результаты этих наблюдений.

И здесь мы констатировали такое же благоприятное влияние рисовых полей на развитие азотобактера в почве.

Выводы

1. Азотобактер широко распространен в главных почвенных типах Болгарии.
2. Количество его сильно увеличивается при окультуривании почвы и особенно при удобрении последней фосфором.
3. Многие культурные растения стимулируют развитие азотобактера в почве.
4. Табак своими корневыми выделениями способствует развитию азотобактера в почве, за исключением случаев применения доз аммиачной селитры.
5. В почве рисовых полей азотобактер развивается обильно, в особенности при затоплении риса медленно текущей водой.

Почвенный институт
Болгарской академии наук
София

Получено 19.I.1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипов-Каратаев И. Н. и Герасимов И. П. Почвы Болгарии, София, 1948.
2. Войнова-Райкова Ж. Върху разпространението на азотобактера у нас. Българска академия на науките, Известия на Почвения институт, кн. 1, София, 1952.
3. Герасимов И. П. и Антипов-Каратаев И. Н. Поездка в Болгарию. Почвоведение, № 2, 1948.
4. Гущин Г. Г. Рис, Л., 1930.
5. Красильников Н. А. Микробиологические основы бактериальных удобрений. М., 1946.
6. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М., 1949.
7. Красильников Н. А. Микроорганизмы и плодородие почвы. Агробиология, XXI, вып. 6, 1952.
8. Мишустин Е. Н. О распространении азотобактера в почвах. Микробиология, XXII, вып. 4, 1953.
9. Научный отчет Всесоюзной рисовой опытной станции за 1914—1942 гг., М., 1946, стр. 32.
10. Стебут А. И. Смолницы Сербии и черные почвы южных областей. Почвоведение, № 3, 1946.
11. Странски Ив. Т. Почвознание, София, 1946.
12. Сушкина Н. Н. Эколого-географическое распространение азотобактера в почвах СССР. М., 1948.

О ВЛИЯНИИ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПОЧВЫ

И. А. Геллер и *Ф. В. Юспе*

В последнее время все большее число исследователей склоняется к мысли о том, что высшие растения питаются не только веществами, которые вносятся в почву в виде минеральных удобрений, но и продуктами, образующимися в результате жизнедеятельности почвенных микробов.

На возможное использование высшими растениями витаминов, аминокислот и веществ типа ауксинов, продуцируемых микроорганизмами, обращали внимание многие авторы [4, 6]. Красильников [4] показал, что пенициллин, стрептомицин и мицетин усваиваются корнями пшеницы и гороха и перемещаются из корней в стебли и листья. По данным Шавловского [7], корни растений поглощают органические соединения серы из продуктов обмена живой клетки. Большое значение микрофлоре почвы в питании растений придает Лысенко [5].

Однако конкретные пути превращения органических и минеральных удобрений в результате жизнедеятельности почвенных и ризосферных микроорганизмов до настоящего времени изучены недостаточно.

По данным Мишустина [6], внесение фосфорно-калийных удобрений и полного минерального удобрения (азот, фосфор, калий) резко сказывается на всей биодинамике почвы: увеличивается общее число бактерий, актиномицетов, грибов и целлюлозных микроорганизмов. Березова и Фадеева [1] проследили влияние гранулированного суперфосфата на микробиологические процессы. По их данным, на некоторых почвах гранулированный суперфосфат способствует развитию азотобактера в почве, тогда как порошковидный суперфосфат не стимулирует размножения азотобактера.

Следовательно, не только химический состав, но и форма вносимых удобрений имеют значение для управления жизнедеятельностью почвенных микроорганизмов.

Весьма немногочисленны исследования в области изучения динамики микробиологических процессов в связи с применением различных доз органических и минеральных удобрений и способов их использования под различные культуры травопольного севооборота. Это ограничивает возможность рекомендации производству конкретных предложений по использованию органических и минеральных удобрений. В настоящее время результаты использования органических и минеральных удобрений чаще всего учитываются только на основании данных по урожайности, полученных в полевом или в вегетационном опытах без учета микробиологического фактора.

Мы изучали динамику некоторых групп почвенных микроорганизмов в связи с внесением в почву различных доз минеральных удобрений. Исследования проводились на оподзоленном черноземе Верхнячской опытно-селекционной станции в стационарном опыте по изучению системы удобрений культур травопольного свекловичного севооборота. В этих опытах в вариантах с различными дозами минеральных удобрений в течение 1949, 1950 и 1951 гг. периодически учитывалось: общее количество бактерий в почве (на МПА), разложение целлюлозы (по методу Кристенсена) и нитрификация на кремнекислом геле (по методу Виноградского). Почвенные образцы для микробиологических анализов брались

Влияние различных минеральных

(Количество удоб

Показатели	Свекловичные высадки 1949 г.				Ячмень + смесь трав: клевер + овсяница 1949 г.			
	дата анализа	N — 15 кг P — 20 кг K — 20 кг	N — 80 кг P — 20 кг K — 100 кг	N — 120 кг P — 135 кг K — 150 кг	дата анализа	без удобрений	P — 60 кг K — 60 кг	P — 90 кг K — 90 кг
Общее количество бактерий (в млн 1 г почвы)	10.IV	6,9	—	10,4	28.IV	0,78	—	1,20
	24.VI	5,0	5,0	7,5	28.VIII	2,11	3,57	2,20
	—	—	—	—	18.X	0,8	4,5	27,9
Разложение целлюлозы (% убыли клетки)	10.IV	15,51	21,47	21,78	28.IV	8,01	9,01	8,49
	24.VI	4,57	5,15	13,65	28.VII	10,41	16,42	12,19
	—	—	—	—	18.X	4,41	6,45	7,03
Нитрификация								
а) % зон просветления	10.IV	54	54	67	28.IV	51	85	80
	—	—	—	—	28.VII	15	36	40
б) $N — NO_3$ в мг на 1 г почвы	10.IV	10,55	9,66	13,72	28.IV	2,93	7,85	4,22
	—	—	—	—	28.VII	1,72	6,47	6,34

Примечание. N — азот, P — фосфор, K — калий.

в стерильных условиях буром Некрасова в пяти местах делянки и из них составлялась средняя проба.

Результаты этих исследований приводим в табл. 1.

Анализ данных, приведенных в табл. 1, указывает на то, что интенсивность микробиологических процессов в почве повышается в связи с увеличением дозы минеральных удобрений. Процессы нитрификации и аэробного разложения целлюлозы значительно ускоряются по мере увеличения дозы минеральных удобрений, вносимых под основные культуры травопольного свекловичного севооборота.

В. Р. Вильямс [2, 3] отметил, что при внесении минеральных удобрений в почву гетеротрофные микроорганизмы активно усваивают элементы минерального питания и интенсивно разлагают органические вещества, в том числе и гуминовые кислоты, способствуя тем самым разрушению структуры почвы. В связи с этим он рекомендовал минеральные удобрения применять совместно с органическими, подчеркивая, что «травопольная система требует одновременного улучшения питания растений и подкормки бактериального населения» [2].

Увеличение численности нитрифицирующих бактерий в почве при повышении дозы минеральных удобрений ясно указывает на то, что при этом произошла минерализация некоторой части органических веществ почвы и создались лучшие условия для жизнедеятельности нитрифицирующих бактерий. Это подтверждается данными анализа содержания легкоподвижных элементов питания в почве.

На основании данных, приведенных в табл. 2, можно отметить, что при увеличении дозы минеральных удобрений, в том числе с увеличением дозы фосфора до 120 и 180 кг, содержание подвижного фосфора (растворимого в лимоннокислой вытяжке) повышается в размерах, превышающих количество внесенного фосфора в виде удобрений.

Таблица 1

удобрений на микрофлору почвы

рений в кг)

Смесь трав 1-го года пользования: клевер + овсяница 1950 г.				Яровая пшеница 1950 г.				Сахарная свекла 1951 г.			
дата анализа	без удобрений	N — 30 кг P — 60 кг K — 60 кг	N — 45 кг P — 90 кг K — 90 кг	дата анализа	без удобрений	N — 30 кг P — 70 кг K — 60 кг	N — 45 кг P — 105 кг K — 90 кг	дата анализа	N — 10 кг P — 20 кг K — 10 кг	N — 100 кг P — 120 кг K — 100 кг	N — 150 кг P — 180 кг K — 150 кг
—	—	—	—	—	—	—	—	16.VI	1,5	3,0	30
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13.VII	15,6	16,6	22,5	4.V	9,73	11,91	12,31	19.IV	10,74	15,05	14,22
—	—	—	—	20.VII	11,97	18,60	27,25	16.VI	17,82	21,00	27,37
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13.VII	20	34	36	4.V	44	71	81	—	—	—	—
—	—	—	—	20.VII	29	44	38	—	—	—	—
13.VII	4,21	6,51	7,14	4.V	5,83	5,83	8,33	19.IV	4,21	8,0	14,11
—	—	—	—	20.VII	5,28	7,14	6,60	16.VI	10,5	11,38	12,93

Следовательно, можно полагать, что питание сахарной свеклы фосфором в этих опытах происходило не за счет внесеннего фосфора в виде минерального удобрения, а главным образом за счет фосфора, образовавшегося в результате усиления жизнедеятельности почвенных микроорганизмов.

Совершенно очевидно, что использование растением питательных элементов почвы и минеральных удобрений зависит не только от химического взаимодействия почвы и удобрительных средств, а в большей степени от биохимических процессов, изменяющихся под влиянием внесенных минеральных удобрений.

Суммируя изложенное, можно отметить, что, хотя приведенные материалы экспериментальных исследований очень ограниченно характеризуют изменения микробиологических процессов почвы в связи с внесением в нее различных доз минеральных удобрений, тем не менее они ясно показывают, что проблема рационального использования минеральных удобрений не может решаться без учета микробиологического фактора.

Выводы

1. Экспериментальные исследования на оподзоленном черноземе Верхнячской опытно-селекционной станции подтверждают, что минеральные удобрения заметно влияют на жизнедеятельность почвенных микроорганизмов. Внесение их в почву под сахарную свеклу, свекловичные высадки, многолетние травы и яровую пшеницу способствовало ускорению процессов нитрификации и разложения целлюлозы.

2. С повышением интенсивности микробиологических процессов и минерализации органических веществ почвы повысилось содержание подвижных форм фосфора. Этим подтверждается положение, что использование растениями питательных элементов почвы и минеральных удобрений зависит не только от химического взаимодействия почвы и удо-

Таблица 2

Влияние различных доз удобрений на питательный режим почвы

(Оподзоленный чернозем Верхнячской станции, культура — сахарная свекла)

Удобрения	Количество удобрений в кг	Дата анализа	Легкоподвижные элементы питания в почве в кг/га			
			азот N		фосфор (кислотная втяжка)	
			пахотный	подпахотный	пахотный	подпахотный
Азот Фосфор Калий	10 20 10	19.IV	155,4	75,9	518	338
Азот Фосфор Калий	100 120 100	19.IV	172,8	115,7	962	390
Азот Фосфор Калий	150 180 150	19.IV	173,9	160,4	1073	546
Азот Фосфор Калий	10 20 10	16.VI	129,0	46,0	666	442
Азот Фосфор Калий	100 120 100	16.VI	137,6	47,8	962	546
Азот Фосфор Калий	150 180 150	16.VI	198,0	77,0	1073	546

Примечание. В таблице азот дан в пересчете на N; фосфор — P_2O_5, калий — K_2O.

брительных средств, а в большей степени от биохимических процессов, изменяющихся под влиянием внесенных минеральных удобрений.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сахарной свеклы
Киев

Получено 29.IX.1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Е. и Фадеева А. О сущности действия гранулированного суперфосфата. Агробиология, № 1, 89, 1950.
2. Вильямс В. Р. Почвоведение. Сельхозгиз, 1936.
3. Вильямс В. Р. Травопольная система земледелия. Воронеж, стр. 146, 1949.
4. Красильников Н. А. Роль микроорганизма в дополнительном питании растений. Успехи совр. биол., **33**, 321, 1952.
5. Лысенко Т. Д. Сельскохозяйственная наука в борьбе за выполнение Сталинской программы. Газета «Известия» от 6 марта 1946 г.
6. Мишустин Е. Н. Почвенная микробиология и ее основные задачи. Тр. Ин-та микробиологии, вып. 1, 1951.
7. Шавловский Г. М. Участие микроорганизмов ризосферы в снабжении растений органическими соединениями серы. ДАН СССР, **91**, 1213, 1953.

ДИАГНОСТИКА СОСТОЯНИЯ АКТИВНОСТИ ПОЧВЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ

В. Д. Манзон и *А. В. Дзецина*

Сложность почвенной среды и большое разнообразие в составе микроорганизмов, находящихся в тесном взаимодействии между собой, почвой и высшим растением, затрудняет подбор быстрого и легкого метода оценки эффективности агротехнических приемов. Общепринятый метод оценки на основе учета урожая является весьма длительным. Отсюда становится понятным стремление многих исследователей использовать микроорганизмы для диагностики текущего состояния почвенного плодородия.

В настоящее время разработан ряд методов для определения количества доступных высшим растениям азота, фосфора, калия и кальция при использовании в качестве биологических индикаторов отдельных микроорганизмов. Виноградский [2], Крючкова [4], Христенсен (Christensen) [9], Никлас (Niclas и др.) [10] и другие для определения наличия легкодоступного высшим растениям фосфора и решения вопроса потребности почвы в известковании использовали в качестве биологического индикатора Azotobacter chroococcum, который считается показателем высоких агрономических свойств почвы. Буткевич [1], Косцелецкий [3], Симакова [7], Бенеке и Зёдинг (Beneke u. Söding [8]) и другие использовали для этой цели Asp. niger, Мишустин [5] для диагностики состояния минерализации органических соединений почвы использует споровую бактерию Bac. mycoides.

Дальнейшим этапом в диагностике текущего состояния почвенного плодородия является предложение об использовании соотношения между представителями микрофлоры разных групп. Так, Мишустин [6] предложил применять соотношение спороносных и неспороносных форм бактерий для индикации санитарного состояния почвы и фазы минерализации органического вещества. Последний метод диагностики заслуживает внимания, поэтому мы использовали его для диагностики состояния активности почвенной микрофлоры, что является содержанием настоящей статьи.

Утвердившийся взгляд на спорообразование, как на защитную реакцию организма против неблагоприятных условий окружающей среды, позволяет расчленить бактериальную флору по состоянию физиологической активности ее на активные (вегетативные) формы и покоящиеся формы (споры).

Относительная численность спор в процентном отношении к общему [1] количеству бактерий в почве принята нами как показатель свойств почвенной среды в отношении условий обитания в ней микроорганизмов. Относительное увеличение численности вегетативных форм бактерий под влиянием определенных приемов воздействий на почву может служить показателем наличия благоприятных условий, а повышение численности спор, наоборот, показателем ненормальных условий для развития микроорганизмов.

---

[1] Общее количество бактерий принято по количеству колоний, выросших на МПА.

Таблица 1

Влияние системы удобрения на соотношение форм бактерий в травопольном севообороте

Система удобрения	Культура	Количество бактерий в млн. в 1 г почвы 24.V			Количество бактерий в млн. в 1 г почвы 23.VI			Количество бактерий в млн. в 1 г почвы 5.VII			Количество бактерий в млн. в 1 г почвы 22.VIII		
		общее	споры	% спор	общее	споры	% спор	общее	споры	% спор	общее	споры	% спор
Без удобрения	Сахарная свекла	4,9	2,7	55,1	4,2	3,0	71,4	3,6	1,5	41,7	6,3	3,1	49,2
Минеральная система удобрения	„ „	4,9	1,8	36,7	7,0	1,5	21,4	6,1	1,6	26,2	7,2	2,7	37,5
Органо-минеральная система удобрения	„ „	7,2	2,1	29,2	8,4	1,3	15,5	11,2	2,9	25,9	9,6	1,4	14,6
Без удобрения	Озимая пшеница	3,6	2,4	66,6	3,8	1,8	47,4	6,5	3,2	49,2	9,3	4,4	47,3
Минеральная система удобрения	„ „	4,2	2,7	64,3	5,6	2,2	39,3	—	—	—	12,3	4,1	33,3
Органо-минеральная система удобрения	„ „	7,0	2,8	40,0	2,4	1,0	41,6	7,5	2,3	30,7	10,8	1,8	16,7
Без удобрения	Яровая пшеница	3,7	3,5	94,6	—	—	—	6,9	2,2	31,9	14,1	2,4	17,0
Минеральная система удобрения	„ „	4,1	1,7	41,5	—	—	—	9,2	2,7	29,3	12,6	2,1	16,7
Органо-минеральная система удобрения	„ „	5,9	1,3	22,0	—	—	—	9,1	2,5	27,5	13,9	2,4	17,3

Методика

Готовились почвенные болтушки и определенные разведения их высевались на МПА. Производился учет общего количества бактерий и спор. Для учета спор болтушка нагревалась в течение 10 минут при 80°.

Таким образом, в каждом исследуемом образце почвы учитывались неспорообразующие, спорообразующие клетки вегетирующие и споры. Первые две группы обозначены в тексте «вегетативные». В табл. 1 приводятся данные о влиянии внесения в почву минеральных и органо-минеральных удобрений на микрофлору в условиях травопольного севооборота.

Эти данные указывают, что под воздействием минеральной и смешанной систем удобрения на лугово-черноземной оподзоленной почве численность бактерий за небольшим исключением возрастает, причем соотношение форм меняется в сторону снижения процента спор к общему количеству бактерий по сравнению с контролем. Более резкое снижение процента спор наблюдается под озимой пшеницей и сахарной свеклой по сравнению с яровой пшеницей как при минеральной, так и при смешанной системах удобрения.

Наблюдаемое изменение в соотношении активных и покоящихся форм бактерий под влиянием применения минеральных и органо-минеральных удобрений находится в полном соответствии с состоянием плодородия почвы и показателями урожайности культур при этих системах удобрения.

Следовательно, соотношение в составе активных и покоящихся форм бактерий правильно отображает почвенные условия, в которых произрастает высшее растение.

Далее мы исследовали влияние на активность почвенной микрофлоры разных норм минеральных удобрений.

Опыт проведен в полевых условиях на трех почвенных разностях: лугово-черноземной оподзоленной почве, среднеподзолистой суглинистой почве и среднеподзолистой супесчаной почве на научно-экспери-

Таблица 2

Влияние количества внесенных удобрений на микрофлору почвы

Удобрения в кг	Почва	Дата набора зения	Количество бактерий в млн. на 1 г почвы			Дата набора зения	Количество бактерий в млн. на 1 г почвы			Дата набора зения	Количество бактерий в млн. на 1 г почвы		
			общее	споры	% спор		общее	споры	% спор		общее	споры	% спор
NPK 60	Лугово-черноземная оподзоленная	1.VII	6,6	1,6	24,2	7.VIII	4,7	1,9	40,4	17.VIII	8,9	0,4	4,5	24.VIII	7,1	2,5	35,2
„ 120		1.VII	4,1	1,2	29,2	7.VIII	4,0	2,4	58,5	17.VIII	5,8	1,6	27,6	24.VIII	4,5	2,2	48,9
„ 180		1.VII	—	—	—	7.VIII	3,8	3,4	89,5	17.VIII	3,7	1,9	51,4	24.VIII	3,0	1,7	56,6
„ 60	Среднеподзолистая суглинистая	1.VII	5,4	1,0	18,5	7.VIII	3,6	1,1	30,6	17.VIII	5,6	0,9	16,1	24.VIII	5,2	1,0	19,2
„ 120		1.VII	5,3	1,2	22,6	7.VIII	2,7	1,1	40,7	17.VIII	4,6	1,2	26,1	24.VIII	4,5	0,7	15,5
„ 180		1.VII	6,3	2,0	31,7	7.VIII	1,8	0,8	44,4	17.VIII	4,4	1,4	31,8	24.VIII	4,5	1,2	26,7
„ 60	Среднеподзолистая супесчаная	31.VII	1,9	0,45	23,6	11.VIII	2,3	0,45	19,6	17.VIII	2,6	0,4	15,4	24.VIII	5,4	1,2	22,2
„ 120		31.VII	1,7	0,55	32,3	12.VIII	1,6	0,55	34,4	17.VIII	2,4	0,5	20,8	24.VIII	3,0	1,1	36,6

ментальной базе Института физиологии растений и агрохимии АН УССР. Удобрение вносилось азотно-фосфатно-калийное, причем NPK вносился в одинарной, двойной и тройной дозах, т. е. 60, 120 и 180 кг на гектар.

Результаты приводятся в табл. 2.

Из данных табл. 2 видно, что концентрация солей при внесении двойной и тройной дозы удобрений подавляет почвенную микрофлору: общее количество бактерий понижается, а численность покоящихся форм бактерий (спор) в процентном отношении к общему количеству повышается. Это наблюдается на всех трех почвенных разностях, причем эта закономерность более выражена на черноземной почве.

Микробиологические показатели позволяют сделать практический вывод о нецелесообразности применения единовременно больших доз минеральных удобрений в равном соотношении и что норма по 60 кг азота, фосфора и калия на исследуемых нами почвах отвечает оптимальным условиям для деятельности микрофлоры в почве.

Различие в соотношении вегетативных и покоящихся форм бактерий мы наблюдали также в почве ризосферы высшего растения на различном расстоянии от корня.

В табл. 3 приводим результаты исследования форм бактерий в корневой системе некоторых растений.

Исследования проводились в зимние месяцы 1952 и 1953 гг. на полях института с целью проследить активность жизнедеятельности микрофлоры при низких температурах.

Таблица 3

Соотношение между количеством вегетативных клеток и спор в почве ризосферы высшего растения

№ пробы	Место взятия образцов	Культура	Дата наблюдения	Температура воздуха в °	Влажность почвы	Количество бактерий в млн. на 1 г почвы		
						общее	споры	% спор
1	В ризосфере . . .	Озимая пшеница	2.II.1952	0	17,2	5,9	1,4	23,7
2	На расстоянии от корня 4 см . .	То же	2.II.1952	0	17,2	3,0	2,7	90,0
3	В ризосфере . . .	„ „	12.II.1952	—12	27,6	17,1	3,3	19,3
4	На расстоянии от корня 4 см . .	„ „	12.II.1952	—12	27,6	8,5	2,9	34,1
5	В ризосфере . . .	„ „	4.III.1952	—10	24,8	7,7	2,3	30,0
6	На расстоянии от корня 1,5 см . .	„ „	4.III.1952	—10	24,8	3,7	3,4	91,9
7	В ризосфере . . .	„ „	25.III.1952	—13	34,2	27,2	0,8	2,9
8	На расстоянии от корня 1,5 см . .	„ „	25.III.1952	—13	34,2	27,6	0,8	2,9
9	В ризосфере . . .	„ „	15.II.1953	—16	31,5	17,5	2,6	14,9
10	На расстоянии от корня 1,5 см . .	„ „	15.II.1953	—16	31,5	6,1	1,8	30,0
11	В ризосфере . . .	Смесь трав	4.III.1952	—13	21,4	9,9	3,2	32,3
12	На расстоянии от корня 1,5 см . .	„ „	4.III.1952	—13	21,4	5,7	1,9	33,3
13	В ризосфере . . .	„ „	25.III.1952	—13	21,8	5,3	0,3	5,6
14	На расстоянии от корня 1,5 см . .	„ „	25.III.1952	—13	21,8	3,8	0,7	18,4
15	В ризосфере . . .	„ „	2.III.1953	—4	25,7	18,2	3,5	19,2
16	На расстоянии от корня 1,5 см . .	„ „	2.III.1953	—4	25,7	14,7	3,8	25,8
17	В ризосфере . . .	Люцерна	23.IV.1952	—	17,9	14,4	1,2	8,3
18	Вне ризосферы . .	„	23.IV.1952	—	17,9	4,5	1,2	26,6

Полученные результаты, помимо прямого ответа на поставленный вопрос, четко указывают, что, независимо от температуры, микрофлора ризосферы по сравнению с микрофлорой почвы, удаленной от корней, отличается более активным состоянием, что выражается повышенным содержанием бактерий в вегетативной форме.

Это, несомненно, объясняется существующим сложным взаимоотношением между микрофлорой и высшим растением. В непосредственной близости от корня его выделения способствуют увеличению численности и активности микроорганизмов; количество вегетативных форм нарастает — количество спор снижается; вне ризосферы наблюдается обратное соотношение.

Можно предполагать, что соотношение между активными и покоящимися формами бактерий определяется составом и количеством корневых выделений, следовательно, оно зависит от стадии развития и физиологических особенностей различных растений.

Для более детального изучения влияния органических легкорастворимых соединений на переход бактерий из одного физиологического состояния в другое, т. е. из споры в вегетативную форму и обратно, мы поставили опыт со внесением в почву различных органических веществ в качестве источника энергии. Последние в количестве 0,5% по отношению к навеске вносились в почву обычную и в почву нагретую при 80—85% в течение 10 минут.

Поскольку вегетативные клетки при нагревании почвы погибали, мы оставшиеся клетки относили к спорам.

Дальнейший учет общего количества бактерий на мясо-пептонном агаре с подразделением их на клетки вегетативные и споры показал, что в почве, подвергнутой нагреванию, появились активные вегетативные формы, что свидетельствует о переходе спор в вегетативные клетки. Варианты поставленных опытов и результаты их приводятся в табл. 4.

Из данных табл. 4 видно, что при внесении в почву энергетического вещества численность бактерий в инактивном состоянии весьма незначи-

Таблица 4

Влияние органических веществ на соотношение активных и покоящихся форм бактерий в почве

№ п/п	Варианты опыта	Дата наблюдения	Количество бактерий в млн. на 1 г почвы			
			общее	вегетативные	споры	вегетативные в % к общему количеству
1	Почва + сахароза	24.III	311,0	307,7	3,3	98,9
2	„ нагретая + сахароза	24.III	18,5	5,6	12,9	30,3
3	„ + сахароза	28.III	191,4	188,8	2,6	98,6
4	„ нагретая + сахароза	28.III	35,9	3,8	32,1	10,6
5	„ + пептон	4.IV	60,1	59,1	1,0	98,3
6	„ нагретая + пептон	4.IV	17,1	16,0	1,1	93,6
7	„ + пептон	7.IV	268,2	265,2	3,0	98,9
8	„ нагретая + пептон	7.IV	123,0	86,6	36,4	70,4
9	„ + глюкоза	10.IV	141,7	137,7	4,0	97,2
10	„ + нагретая + глюкоза	10.IV	27,4	22,6	4,8	82,5
11	„ + виннокислый натрий	10.IV	125,2	122,0	3,2	97,5
12	„ нагретая + виннокислый натрий	10.IV	30,4	17,2	13,2	56,6
13	Почва + лимоннокислый натрий	10.IV	164,2	160,9	3,3	98,0
14	„ нагретая + лимоннокислый натрий	10.IV	44,5	26,1	18,4	58,7

тельна. Так, например, в вариантах 1 и 3 с сахарозой численность покоящихся форм выражается 1,1—1,3% от общего числа бактерий, между тем как в вариантах 2—4 с нагретой почвой, где бактерии были представлены только споровыми формами, значительная часть их активизировала свою деятельность и число вегетативных форм достигает 30,3—10,6% в зависимости от срока внесения сахарозы. В первый срок наблюдения — 24.III численность активных форм больше, чем во второй срок — 28.III, что свидетельствует о частичном использовании микроорганизмами энергетического вещества, вследствие чего среда стала менее благоприятной для жизнедеятельности бактерий, и они опять перешли в покоящееся состояние.

Более сильное влияние на переход покоящихся форм бактерий в активное состояние наблюдается при внесении в почву пептона. Бактериальная флора в нагретой почве под действием пептона почти вся переходит в активное состояние (вегетативных клеток 93,6% от общего состава), но через три дня действие энергетического вещества ослабевает и численность активных форм падает до 70,4%.

Значительную активность микрофлоры можно отметить под влиянием глюкозы, лимоннокислого и виннокислого натрия. Особенно резко сказывается внесение глюкозы.

Приведенные данные показывают, что при внесении в почву органических веществ в форме углеводов, солей органических кислот и пептона активизируется жизнедеятельность всех бактерий и стимулируется переход покоящихся форм (спор) в активное состояние — вегетативные клетки. Известно, что обработка почвы также влияет на соотношение активных и покоящихся форм бактерий.

В табл. 5 приводятся данные микробиологического анализа торфянистой почвы в связи с ее дренированием.

Исследования проведены под тремя культурами в два срока наблюдения, причем под травосмесью наблюдение проведено на трех полях.

Из приведенных данных видно, что дренирование способствовало увеличению общей численности аэробной микрофлоры с одновременным изменением в соотношении форм активных и покоящихся форм бактерий: дренирование обусловило увеличение вегетативных форм и уменьшение

Таблица 5

Соотношение между количеством вегетативных клеток и спор при дренировании торфянистой почвы

Вариант опытов	Культура	Количество бактерий в млн. на 1 г почвы (5.VI)				Количество бактерий в млн. на 1 г почвы (30.VII)			
		общее	вегетативные	споры	% спор от общего количества	общее	вегетативные	споры	% спор от общего количества
Контроль	Кок-сагыз	10,1	5,1	5,0	50,0	11,9	8,1	3,8	32,0
Дренирование	„	17,6	14,7	2,9	16,2	16,9	12,2	4,7	27,8
Контроль	Травосмесь	14,8	10,4	4,4	29,7	—	—	—	—
Дренирование	„	16,8	13,7	3,1	18,4	—	—	—	—
Контроль	„	12,2	7,9	4,3	35,2	10,9	9,4	1,5	13,7
Дренирование	„	15,1	12,9	2,2	14,6	17,2	15,4	1,8	10,5
Контроль	„	15,8	14,2	1,6	10,1	12,9	10,5	2,4	18,6
Дренирование	„	19,1	18,4	0,7	3,7	11,6	10,6	1,0	8,6
Контроль	Сахарная свекла	6,8	1,6	5,2	76,5	12,7	9,8	2,9	22,8
Дренирование	То же	7,3	3,7	3,6	49,3	11,5	8,8	2,7	23,5

спор. Это наблюдалось закономерно под всеми исследуемыми культурами.

Влияние дренирования на нарастание численности и активности бактериальной флоры коррелирует с данными урожайности культур под воздействием этого агротехнического приема, т. е. с повышением урожая наблюдается активизация жизнедеятельности микроорганизмов.

Таким образом, показатель соотношения форм вегетативных бактерий и спор правильно отражает условия почвенной среды и влияние того или иного агротехнического приема на состояние плодородия почвы.

Выводы

Производственное воздействие на почву: внесение удобрений, обработка, выделения высших растений и т. д., сказывается на качественном и количественном составе бактерий и на соотношении их вегетирующих и покоящихся форм. При воздействиях, благоприятствующих развитию бактериальной флоры, наблюдается увеличение численности активных (вегетативных) форм и, наоборот, при наступлении ненормальных условий развития повышается количество инактивных форм (спор).

Соотношение в составе вегетативных форм бактерий и спор является показателем состояния активности микрофлоры почвы и может служить показателем для диагностики состояния почвенной среды в отношении ее плодородия.

Институт физиологии растений
и агрохимии АН УССР

Получено 15. XI. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич В. С. Культура плесневого гриба Аспергиллус нигер, как способ исследования почв. Журн. опытн. агрономии, X, 1909.
2. Виноградский С. Н. и Зиминская И. Sur le pouvoir fixateur des terres. Ann. Inst. Pasteur, XIII, 1928.
3. Косцелецкий А. К. К вопросу о плодородии почв по отношению к фосфорной кислоте. Журн. опытн. агрономии, X, 1909.
4. Крючкова А. П. Микробиологическая оценка потребности почвы в извести и фосфатах. Тр. Ин-та по удобрениям, вып. 76, 1930.
5. Мишустин Е. Н. Распространение Bac. mycoides (Flügge) в почвах. Микробиология, X, вып. 4, 1941.
6. Мишустин Е. Н. Соотношение бактериальных форм в почве как показатель ее самоочищения. Сб. «Загрязнение и самоочищение внешней среды», 1949.
7. Симакова Т. Л. и Бовшик Г. А. К методике микробиологического способа определения потребности почв в фосфоре биологическим методом. Бюлл. Всес. ин-та удобрений, агрохим. и агропочвов., вып. 43, 1932.
8. Beneke W. u. Söding H. Beiträge zum Ausbau der mikrobiologischen Bodenanalise. Z. Pftanzenernahrung, Düngung und Bodenkunde, X, 1927.
9. Christensen. Über das Vorkommen und die Verbreitung des Azotobacter chroococcum in verschiedenen Boden. Ztbl. f. Bact., Abt. II, XVII, 1907.
10. Niklas H., Poschinrider H. u. Trischler I. Die Kultur des Schimmelpilzes Aspergillus niger zur biochemischen Bestimmung des Kali- und Phosphorsauredüngebedürftigkeit des Bodens. Die Ernährung der Pflanze, Heft 5, 1930.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ, ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА БАКТЕРИЙ СЕВАНСКОЙ БУХТЫ

М. Е. Гамбарян

Озеро Севан в микробиологическом отношении почти не изучено. Единственные исследования, проведенные на нем Исаченко [2], Ерзинкяном [1] и Петросяном [4], были посвящены вопросу о биогенном образовании кальция.

Севанская бухта расположена в северо-западной части оз. Севан. В момент исследования в связи с понижением уровня озера для энергетических и ирригационных целей площадь бухты сильно сократилась. Максимальная глубина бухты, достигавшая до спуска 6 м, составляла только около 3 м[1].

Севанская бухта имеет открытое сообщение с озером. Ветры восточных румбов нагоняют поверхностную воду из озера в бухту, ветры западных румбов гонят последнюю от берега в озеро и, таким образом, создаются условия для смешивания озерной воды с водой бухты.

Амплитуда колебания температуры воды во время наших исследований составляла от 2 до 8°.

Сбор материала производился в период с 12.XI по 10.XII 1951 г. трехкратно, в солнечные дни в пяти установленных пунктах.

Пробы воды брались при помощи стерильных склянок с притертыми пробками (прибором типа Городской ленинградской лаборатории) с поверхности воды и с глубины 1 и 2 м. Грунт для исследования брался при помощи простерилизованных спиртом приборов (лот и дночерпатель). После взятия проб сразу же производилась их обработка. Исследование проб воды проведено по методу прямого счета бактерий, предложенному Исаченко [5]. Обработка проб грунта сделана по способу Виноградского, видоизмененному Шульгиной [8]. Полученные результаты приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, наибольшее количество бактерий (обнаружен-

Таблица 1

Распределение бактерий в водной толще и во влажном грунте

(В тысячах)

Места взятия проб (№ станции)	В 1 мл воды по глубинам				В 1 г грунта
	0,2 м	1 м	2 м	в среднем	
1	508	497	483	496	241 190
2	633	575	511	573	201 534
3	587	503	563	551	294 375
4	619	522	531	559	220 729
5	743	578	572	631	280 922

[1] В настоящее время бухта полностью обнажилась. Тем не менее небольшие материалы микробиологических исследований представляют некоторый интерес, так как могут характеризовать развитие бактериальной флоры в литоральном районе оз. Севан.

ных методом прямого счета по Исаченко) находится в поверхностном слое, наименьшее — в нижних горизонтах водной толщи.

Вычислив количество микроорганизмов в 1 мл воды и 1 г влажного грунта, мы получили возможность подсчитать биомассу бактерий.

Для определения объема бактериальных форм нами были произведены необходимые измерения величины микроорганизмов при помощи окуляр-микрометра. Тело бактериальных клеток приравнивалось к геометрическим фигурам (шару, цилиндру, эллипсоиду), и по соответствующим формулам вычислялся объем бактериальных клеток. Для получения величины биомассы бактерий их индивидуальные объемы (т. е. индивидуальные веса) умножались на среднее количество, данное в табл. 1. Полученные результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Объем и биомасса бактерий

(Из средних данных прямого счета по Исаченко)

Форма микробов	Объем клеток в μ^3	Биомасса	
		в воде в мг/л	во влажном грунте в мг/г
Кокки	0,52	0,151	0,073
Палочки	2,35	0,137	0,114
Азотобактероподобные клетки	6,28	0,439	0,298
Эллипсоидные формы	18,84	0,075	—
	Всего	0,802	0,485

Количество бактерий в воде Севанской бухты (в среднем 562 тыс. на 1 мл) близко к содержанию микробов в воде озера эвтрофного типа, какими являются Корози-Лампи, Итке-Ламба, Ласси-Лампа [7], превышая значительно биомассу микроорганизмов в воде олиготрофных озер, таких, как Байкал [3] и Онежское [6].

Выводы

1. Прямой счет (по Исаченко) выявил различие в плотности бактериального населения верхних и нижних горизонтов воды; наиболее высокое содержание бактерий было обнаружено в поверхностном слое воды, с глубиной количество микроорганизмов уменьшалось.

2. Содержание бактерий в донных отложениях Севанской бухты в среднем составит 247 750 тыс. в 1 г влажного грунта и не отличается от такового в илах олиготрофного Онежского озера.

Севанская гидробиологическая станция АН Арм. ССР

Получено 20. V. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ерзинкян Л. А. К вопросу биогенного образования травертинов и кристаллов в оз. Севан. Микробиол. сб. АН Арм. ССР, вып. IV, 1949.
2. Исаченко Б. А. Избранные труды, т. I и II, 1951.
3. Кузнецов С. И. Биомасса бактерий и фитопланктона среднего Байкала. Тр. Лимн. ст., XIII, 1951.
4. Петросян А. Uber ein neues Kalkfällendes Bakterium aus dem Sewansee (Goktschasee). Bact. Sewanense spec. nov. Ztbl. für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, II Abt., 85, 1932.
5. Родина А. Г. Микробиологические исследования водоемов. Изд. АН СССР, 1950.
6. Салимоновская-Родина А. Г. Микробиологические исследования Онежского озера в 1930—1931 гг. Исследование озер СССР, вып. 1, 1932.
7. Салимовская-Родина А. Г. О вертикальном распределении бактерий в воде озер. Микробиология, VII, вып. 6, 1938.
8. Федоров М. В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Сельхозгиз, 1951.

ВЛИЯНИЕ ЛАКТАМА АМИНО-КАПРОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ВОДНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ САМООЧИЩЕНИЯ ВОДЫ

Ц. И. Роговская

Определение и обоснование степени токсичности сточных вод или их отдельных компонентов для флоры и фауны водоема и сооружений биологической очистки имеют большое значение при выработке санитарно-гигиенических норм спуска сточных вод в водоем и выборе метода очистки сточных вод.

В отношении лактама амино-капроновой кислоты, являющегося компонентом сточных вод производства искусственного волокна, этот вопрос не получил освещения ни в отечественной, ни в зарубежной литературе.

Излагаемая ниже работа, проведенная в институте ВОДГЕО в 1948 г., посвящена изучению влияния капролактама на водные микроорганизмы и биохимические процессы самоочищения воды.

Экспериментальная часть

Методика

При изучении токсичности тех или иных веществ многие исследователи обычно испытывают действие этих веществ на отдельных, часто случайных представителях водной флоры и фауны. Отсутствие апробированного комплекса водных организмов для такого рода экспериментальных исследований создает большую условность в перенесении данных эксперимента в природные условия (водоем, очистное сооружение).

Исходя из этих предпосылок, мы изучали влияние капролактама не на отдельные организмы, а на весь комплекс микроорганизмов, развивающийся в речной воде и фекально-хозяйственной жидкости.

Опыты проводились по методике, разработанной в институте ВОДГЕО [2] и неоднократно применявшейся нами при решении аналогичных вопросов [3, 7].

Методика опытов в основном состояла в следующем: в четырехлитровые широкогорлые банки наливалось по 2 л речной или разбавленной фекально-хозяйственной воды, в которую добавлялся капролактам в количестве 50—1000 мг/л. В один сосуд лактам не вводился, и он служил контролем. Жидкость в опытных сосудах перемешивалась лишь перед отбором проб для анализа. В момент постановки опыта и затем через определенные периоды времени производился посев бактерий на МПА, приготовленный с добавлением 100 мг/л капролактама. Добавлением к агару исследуемого вещества создаются более благоприятные условия для выращивания бактерий. Параллельные посевы на обычной среде и на среде с добавкой изучаемого лактама всегда давали через 48 часов выращивания в первом случае меньшее количество бактерий и более мелкие колонии. Лишь при длительном выращивании в течение 5—10 суток мы получали близкие цифры. Инкубация посевов при 20° продолжалась 48 часов.

В отдельных опытах для учета количества бактерий, помимо метода пластинок, применявшегося нами ранее, одновременно был применен ме-

тод прямого микроскопического исследования с раздельным учетом живых и мертвых клеток [5] [1].

В этих же растворах велись наблюдения за развитием бесцветных жгутиковых, инфузорий, а также проводились некоторые химические определения (окисляемость, pH, азоты: аммонийный, нитритов, нитратов), дающие возможность судить о скорости биохимических процессов.

Для выяснения действия капролактама на фитопланктон мы использовали метод «биологической производительности» [6].

Опыты проводились с речной водой, взятой в β-мезосапробной зоне. Проведение опытов сводилось к следующему: вода из водоема разливалась в ряд совершенно одинаковых колбочек по 50 мл. Во все колбочки вводились питательные элементы: KNO_3 из расчета 0,5 мг/л N, KH_2PO_4 из расчета 0,4 мг/л P_2O_5, $Fe_2(SO_4)_3$ из расчета 0,4 мг/л Fe.

Часть колбочек использовалась в виде контроля и оставалась без добавления капролактама, в другие вводился лактам в различных концентрациях. Колбы, закрытые ватными пробками, помещались на окне. Тотчас после постановки опыта и затем через несколько дней проводился подсчет водорослей (счет велся по клеткам). Для каждой концентрации бралось по две колбы. В конце опыта все содержимое колбы отфильтровывалось через мембранный фильтр, высушивалось при 60° до постоянного веса и взвешивалось.

Результаты опытов

Влияние капролактама на сапрофитные, нитрифицирующие бактерии, на простейших и на биохимические процессы

Лактам амино-капроновой кислоты ($NH(CH_2)_5CO$) представляет собой бесцветное кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде.

При введении капролактама в речную воду и в фекально-хозяйственную жидкость в количестве до 1 г/л цвет и запах воды не изменяются.

Развитие сапрофитных бактерий в фекально-хозяйственной жидкости с добавлением капролактама, как видно из табл. 1, происходит при всех испытуемых концентрациях.

Максимальное количество бактерий в течение первых суток во всех растворах наблюдалось через 9 часов от начала опыта. Скорость размножения сапрофитов в этот период во всех растворах была одинакова [2]: для контроля G колебалось от 65 до 192, при концентрации лактама 50—200 мг/л — от 60 до 195, при 500—1000 мг/л — от 66 до 197, что заставляет предполагать, что в этот период капролактам бактериями не усваивался. Затем наступало отмирание бактерий, шедшее во всех растворах примерно с одной и той же скоростью [3]. Для контроля K коле-

---

[1] Прямой метод счета был проведен младшим научным сотрудником института М. Ф. Лазаревой.

[2] Скорость размножения бактерий вычислялась по формуле:

$$G = \frac{t \lg^2}{\lg B - \lg A},$$

где G — время генерации, A — начальное число бактерий, B — число бактерий через t минут, t — время в минутах.

[3] Коэффициент скорости отмирания вычисляется по формуле:

$$K = \frac{1}{t} \lg \frac{A}{B},$$

где K — константа процесса, A — начальное число бактерий, B — число их через t минут, t — время в минутах.

Таблица 1

Развитие бактерий в фекально-хозяйственной жидкости с добавлением капролактама

(Количество бактерий в 1 мл воды в миллионах)

Период наблюдений	Концентрация капролактама в г/л						
	контроль	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0
При постановке опыта	0,175	0,194	0,2	0,19	0,22	0,21	0,22
Через 1 час	0,28	0,23	0,33	0,25	0,29	0,24	0,35
„ 3 часа	0,995	0,96	1,0	1,0	1,33	1,25	1,25
„ 6 часов	1,9	2,2	2,47	2,1	2,1	2,35	2,5
„ 9 „	3,8	3,6	4,0	3,9	3,7	4,2	4,5
„ 20 „	2,0	2,3	1,3	2,0	1,0	3,1	3,1
„ 24 часа	0,3	0,3	0,5	0,5	0,3	0,4	1,4
„ 28 часов	0,18	0,23	0,5	0,9	0,4	0,5	0,3
„ 42 часа	0,16	0,12	0,2	0,58	0,1	0,09	0,09
„ 48 часов	0,15	0,3	0,15	0,35	0,2	0,1	0,09
„ 72 часа	0,14	0,12	0,08	0,14	0,08	0,1	0,08
„ 96 часов	0,003	0,6	0,2	—	—	—	—
„ 7 суток	0,005	0,002	0,003	1,73	5,0	0,13	0,24
„ 12 „	0,007	0,15	0,33	1,66	0,23	0,056	0,44
„ 14 „	0,002	0,1	0,05	0,15	0,65	4,77	0,59
„ 16 „	0,004	0,07	0,06	0,66	2,68	2,3	1,68
„ 17 „	0,002	0,01	0,17	0,12	0,67	1,32	0,86
„ 20 „	0,004	0,008	0,004		0,11	0,03	0,001
„ 22 „	0,002	0,004	0,002	0,004	0,07	0,07	0,015

Примечание. Для 1000 мг вторичный максимум был нами, повидимому, пропущен.

балось от 0,004 до 0,0006, для раствора с содержанием 300,0 мг/л капролактама — от 0,008 до 0,0007 и для 1000 мг/л — от 0,002 до 0,0006.

В дальнейшем в растворах, содержащих капролактам, наблюдается увеличение числа бактерий, что, повидимому, объясняется сменой форм и развитием специфической микрофлоры, использующей данный лактам как источник питания. В растворах с большими концентрациями капролактама развивается наибольшее количество бактерий. Аналогичный ход кривых был получен при наблюдении за действием различных концентраций капролактама на микрофлору речной воды.

Наиболее чувствительными формами оказались нитрифицирующие бактерии.

Проведенные нами исследования показали, что первая фаза процесса нитрификации за период наблюдений протекала во всех испытываемых концентрациях (50—1000 мг/л), но с различной интенсивностью.

Тормозящее действие капролактама на нитрификации начинает сказываться при содержании его в растворе 200 мг/л, причем в более концентрированных растворах это действие проявляется более резко. Что же касается второй фазы процесса — образования нитратов, то здесь влияние капролактама проявляется уже при содержании его 100 мг/л, причем в растворах с 500—1000 мг/л образования нитратов за весь период наблюдений отмечено не было.

Для установления предельной концентрации капролактама, не тормозящей развития специфических сапрофитных форм бактерий, а также отдельных культур бактерий, было проведено несколько специальных опытов [4].

[4] Опыты проводились при участии младшего научного сотрудника М. Ф. Лазаревой.

Методика этих опытов была следующей: синтетическая питательная среда (KH_2PO_4 — 0,025%, K_2HPO_4 — 0,01%, $MgSO_47H_2O$ — 0,01%, NH_4NO_3 — 0,01%, NaCl и $FeCl_3$ — следы, pH = 7,2), приготовленная на водопроводной воде, разливалась по 100 мл в колбочки, стерилизовалась текучим паром и инокулировалась бактериями из опытного сосуда, содержащего 1 г/л капролактама. Одна из колб служила контролем, в нее капролактам не добавлялся, а в остальные давался в различных концентрациях. Опыты велись при температуре 19—23°. При постановке опыта и затем через определенные периоды времени производился посев бактерий. Счет бактерий проводился через 48 часов. Результаты наблюдений сведены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние лактама амино-капроновой кислоты на специфические сапрофитны формы бактерий

Срок наблюдений в сутках	Концентрация лактама в г/л			
	0 контроль	5	10	50
	количество бактерий в 1 мл жидкости			
При постановке опыта	630	550	630	670
2	270 000	541 000	254 000	0
4	942 000	1 327 000	727 000	0
7	750 000	1 560 000	1 125 000	0
10	800 000	1 450 000	1 438 000	0
12	822 000	1 420 000	1 245 000	0
14	650 000	1 223 000	957 000	0

Из приведенных данных видно, что концентрация капролактама 10 г/л не тормозила развития сапрофитной микрофлоры; содержание капролактама в 50 г/л являлось токсичным.

Опыт был повторен для концентрации 50 г/л. Все условия опыта были сохранены, за исключением инокуляции. Заражение жидкости было произведено из среды, содержащей 10 г/л капролактама, в которой бактерии были адаптированы к более высоким концентрациям капролактама. Как видно из табл. 3, мы получили аналогичный результат. Следую-

Таблица 3

Влияние лактама амино-капроновой кислоты на специфические сапрофитные формы бактерий

(Количество бактерий в 1 мл жидкости в тысячах)

Концентрация капролактама в г/л	Период наблюдений		
	при постановке опыта	1 сутки	3 суток
50	510	150	0

щая серия опытов проводилась со смесью культур: Bact. prodigiosum, Bact. aerogenes, Bact. fluorescens. Культуры бактерий предварительно выращивались на жидкой среде с содержанием лактама 1 г/л, затем пересевались на твердую среду, также содержащую 1 г/л лактама. Из приготовленной на стерильной воде бактериальной эмульсии бралась одна капля для заражения.

Результаты наблюдений представлены в табл. 4.

Как видно из приведенной таблицы, содержание капролактама в количестве 10 г/л не оказывает влияния на смесь культур: Bact. prodigiosum, Bact. fluorescens, Bact. aerogenes.

Таблица 4

Влияние капролактама на смесь культур

(Количество бактерий в 1 мл жидкости в тысячах)

Сроки наблюдений в сутках	Концентрация лактама в г/л				
	0 контроль	10	20	30	40
При постановке опыта	1330	1530	1150	1140	1580
2	2325	3310	1085	1505	1300
3	6500	7500	1500	1670	120
4	3100	3450	900	885	470
7	3750	2225	920	250	75

Концентрация капролактама в 40 г/л токсична для всех изученных видов.

Опыты по выяснению влияния капролактама на сапрофитные формы бактерий показали, что данный лактам в определенных концентрациях не обладает бактерицидными свойствами и, повидимому, усваивается микроорганизмами.

Для изучения этого вопроса нами были поставлены наблюдения за развитием бактерий на синтетической среде, где лактам давался в одном случае как источник азота, а в другом — как источник углерода. Методика опытов состояла в следующем: основная питательная среда, содержащая KH_2PO_4 — 0,2%, K_2HPO_4 — 0,5%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,2%, NaCl и $FeCl_3$ — следы, разливалась в колбочки по 200 мл, и затем по нижеприведенной схеме вводился капролактам, сернокислый аммоний и глюкоза; в контроль капролактам не давался. Колбы стерилизовались текучим паром. После стерилизации во все колбочки была внесена культура бактерий, предварительно выделенная из раствора, содержащего 1 г/л лактама. Начальный pH растворов был равен 7,1. Опыты проводились при температуре 22—23° (см. следующую схему опытов).

Капролактам—источник углерода	Капролактам—источник азота
Лактам 0,8 г/л + $(NH_4)_2SO_4$ 1 г/л	Лактам 0,8 г/л + глюкоза 1 г/л
„ 0,2 г/л + $(NH_4)_2SO_4$ 1 „	„ 0,2 г/л + глюкоза 1 „
„ 0 + $(NH_4)_2SO_4$ 1 „	„ 0 + глюкоза 1 „
Контроль	Контроль

Результаты опытов, представленные в табл. 5, подтвердили наше предположение об использовании капролактама сапрофитными формами бактерий.

Максимальное количество бактерий наблюдалось в колбах, где лактам давался как источник углерода.

Введение капролактама в фекально-хозяйственную жидкость не изменяет pH растворов. В контроле и во всех сосудах с капролактамом в течение первых шести суток pH колебался от 8,25 до 8,0; затем в рас-

творах наблюдалось некоторое снижение pH, в отдельных случаях pH доходил до 7,4, но вскоре жидкость вновь подщелачивалась до pH = 7,8—8,2.

Колебания pH в растворах объясняются биохимическими процессами, протекающими в жидкости.

Биохимические процессы минерализации органического вещества идут во всех испытуемых концентрациях, но с различной скоростью. В растворах, содержащих капролактам до 300 мг/л, процесс идет так же, как в контроле, с увеличением концентрации интенсивность процесса замедляется.

Таблица 5

Рост бактерий на синтетической среде с добавлением лактама как источника азотистого и углеродистого питания

(Количество бактерий в 1 мл жидкости)

Период наблюдений в сутках	Источник углерода лактам в мг/л			Источник азота лактам в мг/л		
	контроль	200	800	контроль	200	800
При постановке опыта	660	830	790	800	860	660
2	1 370	1 160	1 325	500	1 100	1 400
3	1 725	1 830	2 635	390	570	590
4	1 425	2 365	5 020	230	500	385
5	2 515	2 735	16 175	75	380	430
6	2 630	4 150	18 500	100	285	415
9	3 030	5 450	29 950	80	56	120
10	2 645	4 600	23 175	50	42	127
11	2 740	—	21 900	50	47	80
12	2 840	4 870	28 270	—	—	—
15	2 440	4 280	—	15	16	16
17	1 670	5 725	25 165			
22	1 330	—	9 605			
25	1 175	8 480	7 250			
27	1 150	9 818	5 300			
32	565	9 845	4 410			
34	560	9 015	4 815			
38	250	5 650	4 140			
41	280	3 880	3 875			
44	20	2 380	1 720			
48	10	970	1 300			

Что же касается влияния капролактама на бесцветные жгутиковые и инфузории, то как в речной воде, так и в фекально-хозяйственной жидкости при содержании капролактама до 1 г/л развитие вышеуказанных организмов идет так же, как в контроле. В испытуемых растворах развивались: бесцветные жгутиковые, Cryptomonas, Eudorina elegans, Colers hirtus, Lionotus lamella и fasciola, Oxytricha pellionella и platystoma, Vorticella convallaria и microstoma, Glaucoma pyriformis, Chilodon uncinatus, Cyclidium glaucoma, Cinetochilum margaritaceum, Aspidisca costata, Euplotes sp.

Влияние капролактама на фитопланктон

Как указывалось выше, для изучения влияния капролактама на фитопланктон был использован метод «биологической производительности воды».

Аналитический материал приведен в табл. 6 и 7.

Опыты показали, что поступление в речную воду капролактама в количестве до 1 г/л не оказывает токсического действия на развитие фитопланктона и не изменяет формы и окраски водорослей.

Влияние капролактама на кислородный режим водоема

При определении допустимой нагрузки сточных вод на водоем одним из основных требований является обеспечение содержания растворенного кислорода в речной воде после смешения ее со сточной водой не ниже 4 мг/л. Поскольку капролактам является органическим соединением, возникло сомнение, не будет ли нарушен кислородный режим водоема при сбросе в него сточных вод, содержащих данный лактам.

Для освещения этого вопроса нами были поставлены наблюдения за содержанием растворенного кислорода в речной воде с добавлением различных количеств капролактама.

Использованная для опытов речная вода характеризовалась следующими показателями: pH = 8,1, окисляемость — 5,4 мг/л, NH_3 — 0,07 мг/л N, N_2O_3 — 0, N_2O_5 — 0. В центрифужном планктоне обнаружены единично следующие организмы: Cryptomonas, Trachelomonas, Nitzschia, Pediastrum, Eudorina, Cyclotella, Fragillaria, Strombidium.

Капролактам добавлялся в речную воду в количестве от 20 до 1000 мг/л. Контролем служила речная вода без лактама.

Опыты проводились в статических условиях при температуре 18—19,5° и 20,2—25,2°. Пробы на кислород отбирались сифоном из придонных слоев, одновременно в этих же точках отбирались пробы воды для бактериологического анализа.

В первом опыте определение содержания растворенного кислорода в растворах и числа бактерий [5] проводилось через 1, 3, 6, 10, 24, 30 и

Таблица 6

Развитие фитопланктона в речной воде в присутствии капролактама

(Опыт I.; количество организмов в 1 мл жидкости)

Наименование организма	Концентрация капролактама в мг/л			
	0 контроль	50	300	1000
При постановке опыта				
Chlorella	Единично	Единично		
Ankistrodesmus	»	»		
Navicula	»	»		
Через 4 суток				
Chlorella	343	7045	6250	1852
Ankistrodesmus	—	114	450	739
Oocystis	—	228	—	455
Scenedesmus	—	—	—	114
Общее количество организмов	343	7387	6700	3160
Через 15 суток				
В массе развивается нитчатая водоросль Mougeotia. Просчитать количество организмов не представляется возможным				
	Весовой анализ в мг/50 мл жидкости			
	7,0	6,5	10,5	9,0

Примечание. В таблице приведены средние данные из двух колб.

[5] Проводился учет сапрофитов и общего количества бактерий с учетом живых и мертвых клеток.

Таблица 7

Развитие фитопланктона в речной воде в присутствии капролактама

(Опыт II; количество организмов в 1 мл жидкости)

Название организма	Концентрация капролактама в мг/л			
	0 контроль	50	300	1000
При постановке опыта				
Chlorella	Единично		Единично	
Scenedesmus	»		»	
Ankistrodesmus	»		»	
На 10-е сутки				
Chlorella	35 341	60 681	43 636	34 660
Scenedesmus	4 545	5 113	2 613	1 818
Ankistrodesmus	568	7 000	2 500	2 045
Oocystis	909	1 022	909	909
Общее количество организмов	41 363	73 816	49 658	39 432
На 17-е сутки				
Chlorella	270 397	228 125	251 250	237 500
Scenedesmus	18 125	35 000	44 375	29 375
Ankistrodesmus	8 000	27 500	4 062	40 000
Pediastrum	7 812	10 937	—	8 125
Coelastrum	14 687	—	26 575	14 062
Actinastrum	15 000	15 500	—	—
Merismopedia	14 440	16 562	47 937	14 000
Общее количество организмов	348 461	333 624	374 199	343 062
Весовой анализ в мг/50 мл жидкости	12,0	12,8	11,0	12,0

Примечание. В таблице приведены средние данные из двух колб.

Рис. 1. Влияние капролактама на содержание растворенного кислорода и на развитие бактерий в речной воде (опыт II)

48 часов. Во втором опыте период наблюдений был продлен до 10 суток.

Введение капролактама в речную воду в количестве 20—1000 мг/л не вызывало значительных изменений в содержании растворенного кислорода в воде (рисунок).

Обращает на себя внимание зависимость содержания растворенного кислорода в воде от количества бактерий. Увеличение числа бактерий вызывает снижение растворенного кислорода, с уменьшением их количества содержание растворенного кислорода в воде возрастает. Эта закономерность наблюдалась во всех опытных растворах. Наиболее рельефно эта зависимость проявляется при применении метода прямого счета, с дифференцированным учетом живых и мертвых клеток[6] (рисунок). Аналогичную зависимость наблюдали: Кузнецов [4], изучая интенсивность поглощения кислорода в Белом и Глубоком озерах, и Винберг [1], выясняя соотношение между изменениями общего числа бактерий и скоростями потребления кислорода при хранении проб речной воды.

Выводы

1. Лактам амино-капроновой кислоты в концентрации до 1 г/л не изменяет цветности, запаха и pH речной воды и фекально-хозяйственной жидкости.

2. Капролактам в концентрации 1 г/л не влияет на сапрофитные формы бактерий и в количестве до 10 г/л не влияет на специфическую сапрофитную микрофлору.

3. Капролактам не оказывает влияния на Bact. prodigiosum, Bact. aerogenes, Bact. fluorescens при содержании его в растворе в количестве 10 г/л; содержание лактама в 40 г/л токсично для всех изученных видов.

4. Капролактам используется некоторыми микроорганизмами как источник питания.

5. Биохимические процессы минерализации органического вещества нормально протекают при концентрации капролактама в растворе не свыше 0,3 г/л.

6. Первая фаза процесса нитрификации идет при всех испытуемых концентрациях (0,05—1,0 г/л), но с различной интенсивностью. Тормозящее действие лактама начинает сказываться при содержании его в растворе в количестве 0,2 г/л. Для второй фазы процесса (образование нитратов) тормозящее действие капролактама начинает проявляться при содержании его в растворе в количестве 0,1 г/л. В растворах, имеющих концентрацию 0,5—1,0 г/л, образования нитратов не наблюдалось.

7. Капролактам в концентрации до 1 г/л не оказывает влияния на простейшие организмы (бесцветные жгутиковые, инфузории).

8. Поступление капролактама в открытый водоем в количестве до 1,0 г/л не вызывает значительных изменений в кислородном режиме водоема. Наблюдается зависимость содержания растворенного кислорода в воде от количества бактерий.

Наиболее рельефно это проявляется при применении прямого метода счета с учетом жизнеспособных клеток.

9. Применение метода «биологической производительности» для установления степени токсичности сточной воды или отдельных ее компонентов для фитопланктона позволяет сделать обоснованные выводы о степени токсичности, так как влияние испытуемого вещества изучается на целом комплексе организмов.

10. Поступление капролактама в водоем в количестве до 1 г/л не оказывает токсического действия на развитие фитопланктона, не изменяет формы и окраски водорослей.

11. Предельной концентрацией для сброса капролактама в водоем без существенного ущерба для биохимических процессов самоочищения воды является содержание лактама в потоке не более 0,1 г/л.

Институт ВОДГЕО
Москва

Получено 8. X. 1953 г.

[6] При построении кривых учтены лишь живые жизнеспособные клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Винберг Г. Г. и Ломоносова М. С. Общее число бактерий и скорость потребления кислорода. Микробиология, XXII, вып. 3, 1953.
2. Калабина М. М. Определение токсичности промышленных сточных вод и их отдельных компонентов. Гигиена и санитария, № 4—5, 1945.
3. Калабина М. М., Мудрецова К. А., Разумов А. С. и Роговская Ц. И. Влияние токсических веществ сточных вод цветной металлургии на микроорганизмы и биохимические процессы, характеризующие самоочищение воды. М., 1947.
4. Кузнецов С. И. Определение интенсивности поглощения кислорода из водной массы озера за счет бактериологических процессов, Труды Лимнологической станции в Косине, вып. 22, 1939.
5. Лазарева М. Ф. Прямой счет бактерий при решении задач технической микробиологии воды. М., 1953.
6. Мудрецова К. А. и Алеев Б. С. Цветение воды и методы его предсказания. Водоснабжение и санитарная техника, вып. 3, 1939.
7. Роговская Ц. И. Влияние тринитротолуола на микроорганизмы и биохимические процессы самоочищения воды. Микробиология, XX, вып. 3, 1951.

О КОЛИЧЕСТВЕ АЦИДОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В КИШЕЧНИКЕ ЛОШАДЕЙ

А. И. Улендеев

Ацидофильная палочка (Bact. acidophilum) является доминирующим микробом в кишечнике молодых животных, питающихся молоком. В кишечнике взрослых животных, в частности лошадей, эта бактерия, судя по некоторым литературным данным, встречается редко, а иногда совершенно отсутствует.

Ацидофильную палочку из кишечного содержимого лошадей впервые изолировал Мережковский [2]. Выделенная им бактерия при росте на сахарном агаре образовывала волокнистые колонии и была отнесена к типу № 2 («Корневидный»).

Чукевич (Choukewitch [4]) из лаборатории Мечникова регулярно находил ацидофильных бактерий в пищеварительном канале лошадей как молодых, так и старых. У жеребят-сосунов количество Bact. acidophilum в испражнениях было значительно больше, чем у взрослых животных, получающих растительную пищу.

Губер (Huber [6]), Гопффе (Hopffe [5]) не могли обнаружить ацидофильную палочку в желудочно-кишечном тракте лошади, несмотря на большое количество проведенных опытов. Поэтому они не упоминают ее в числе бактерий, постоянно обитающих в кишечнике этих животных.

В последнее время к аналогичным результатам пришел Леонович [1]. Он считает, что в микрофлоре кишечника лошадей (жеребят) ацидофильная палочка отсутствует и не может развиваться, потому что ей мешают молочнокислые стрептококки, являющиеся антагонистами Bact. acidophilum.

Таким образом, одни авторы могли обнаружить ацидофильную палочку в содержимом кишечника лошадей, другие — нет.

В связи с неясностью вопроса мы решили проверить, имеются ли в кишечнике взрослых лошадей ацидофильные бактерии и если имеются, то в каком количестве.

Мы не могли согласиться с данными Губера, Гопффе, Леонович, согласно которым в кишечнике лошадей ацидофильная бактерия отсутствует. Повидимому, авторы были или недостаточно наблюдательны при проведении своих исследований, или же пользовались не совсем точными методами при выделении Bact. acidophilum. Для выделения ацидофильных бактерий чаще всего применяется следующий способ. Испражнения в количестве 6—8 петель засеваются в пробирки с бульоном с 2% сахара и 0,5% уксусной кислоты под слоем вазелинового масла (среда Геймана). После инкубации при 37,5° в течение трех суток из них делаются высевы на чашки с сахарным агаром (pH = 6,8—7,0). Через трое суток инкубации чашки просматриваются, выбираются отдельно расположенные колонии ацидофильных бактерий и из них делаются отвивки опять на чашки с сахарным агаром. В дальнейшем на этой же среде культуру перевивают несколько раз из изолированных колоний до получения чистой культуры.

Вместо бульона с уксусной кислотой некоторые авторы пользуются молоком. В этом случае одна-две петли испражнений вносятся в пробирку со стерильным молоком, которые ставятся в термостат при 40—43°.

Когда молоко свертывается, сгустком его заражают вторую такую же пробирку, затем третью и так до тех пор, пока количество ацидофильных бактерий в молоке не будет превалировать над остальными. После этого делается засев молока на чашки с сахарным агаром и культура выделяется из изолированных колоний.

Оба эти метода принципиально не отличаются между собой и имеют следующие недостатки. Они рассчитаны только на получение чистых ацидофильных культур, но не дают никакого представления о количестве ацидофильных бактерий в исследуемом материале. Они отнимают у исследователя очень много времени, иногда больше месяца, так что Bact. acidophilum уже в процессе выделения этими методами начинает снижать свою активность, из S-формы превращается в R-форму. Но самый главный недостаток этих методов заключается в том, что они недостаточно надежны, так как не всегда позволяют выделить ацидофильных бактерий из кишечного содержимого животных, в частности лошадей.

Мы в своих опытах исследовали 29 проб испражнений от 22 жеребят, пользуясь средой Геймана. Нам удалось выделить ацидофильных бактерий лишь у 10 жеребят. Это обстоятельство побудило нас отказаться от данного метода и разработать новую, более совершенную методику выделения ацидофильных бактерий, рассчитанную не только на быстрое получение чистой культуры, но и на определение количества этих бактерий в исследуемом материале.

Сущность нашего метода заключается в следующем: 1,0 г испражнений, взятых из прямой кишки взрослой лошади, разводится в стерильном молоке до 1 : 1000; 1 : 10 000 (испражнения жеребят разводятся до 1 : 100 000, 1 : 1 000 000).

Из каждого разведения стерильной микропипеткой набирается 0,1 мл и переносится в пробирку с расплавленным и остуженным до 45° кислым МПА. Последний представляет собой МПА с 2% глюкозы строго нейтральной реакции, подкисленный перед употреблением 80%-ной уксусной кислотой до 0,1% концентрации (pH нейтрального агара в результате добавления уксусной кислоты понижается до 5,4—5,2).

Содержимое пробирки слегка взбалтывается и быстро выливается в стерильную чашку Петри. Чашки с посевами выдерживаются при 37,5°.

Рост ацидофильных колоний на кислом МПА становится видимым уже через сутки, но максимальной величины они достигают только через двое-трое суток. Поэтому подсчет колоний лучше произвести через трое суток. Наиболее крупные колонии и чистый рост получаются на агаре из разведений 1 : 1000 — 10 000. В этих чашках подавляющее число колоний принадлежит ацидофильным палочкам и только небольшая часть из них другим кишечным микробам. Колонии ацидофильных бактерий отличаются от последних тем, что они при исследовании невооруженным глазом представляются маленькими, точечными, круглыми образованиями, с неровными краями, не просвечивают в проходящем свете. При микроскопическом исследовании (малое увеличение микроскопа) они бурого цвета, имеют форму клубка из переплетающихся нитей или корневидную форму.

Для полной уверенности в том, что описанные колонии действительно принадлежат ацидофильным, а не другим бактериям, в отдельных случаях мы пересевали их на бульон и подвергали дальнейшей проверке: окраске по Граму, проверке на подвижность, на антагонизм и т. д. Бактерии считались ацидофильными, если они: а) развивались на сахарном агаре при pH = 5,2 — 5,4; б) давали на кислом агаре волокнистые (корневидные) колонии, а в бульоне — равномерную муть с последующим выпадением в рыхлый осадок; в) окрашивались положительно по Граму; г) не обладали активной подвижностью; д) обнаруживали антагонизм к паратифозным бактериям на жидких сахарных средах.

Пользуясь своим методом, мы исследовали кишечное содержимое 14

взрослых лошадей различного возраста и упитанности. Две лошади из этой группы страдали паратифозным бурситом в области холки. Все животные получали в сутки следующий рацион: сено вволю, овес — 4 кг, поваренной соли 20—30 г, поились водопроводной водой. Результаты исследования суммированы в таблице.

Таблица

Количество ацидофильных бактерий в испражнениях лошадей

Возраст исследованной лошади в годах	Упитанность	Состояние здоровья животных	Количество ацидофильных бактерий в тыс. на 1 г
2	Средняя	Норма	8000
2	„	„	5600
6	Хорошая	„	4700
7	Средняя	Паратиф. бурсит	2860
8	Ниже средней	Норма	2170
9	Средняя	„	1500
9	„	„	1400
10	„	„	2000
10	„	„	1800
12	„	„	1200
12	„	Паратиф. бурсит	860
13	„	Норма	2000
20	Ниже средней	„	700
23	Средняя	„	1800

Как видно из таблицы, ацидофильную палочку нам удалось обнаружить в испражнениях всех лошадей, независимо от возраста, состояния здоровья и упитанности. Но количество этих бактерий у разных лошадей было различное. В испражнениях молодых, хорошо упитанных лошадей, как правило, их было больше, чем в испражнениях старых, плохо упитанных или больных животных.

Выводы

1. Ацидофильная палочка является постоянным обитателем желудочно-кишечного тракта взрослых лошадей.

2. Количество живых ацидофильных бактерий в испражнениях взрослых лошадей колеблется по приблизительным подсчетам от 700 тыс. до 5—8 млн. на каждый грамм испражнения.

Ивановский сельскохозяйственный институт

Получено 22. II. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Леонович В. В. Взаимоотношения представителей облигатной микрофлоры кишечника сельхозживотных. Тр. Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, XII, вып. 2, 1953.
2. Мережковский С. С. К вопросу о роли микроорганизмов в кишечнике. Ацидофильные бактерии. Арх. ветеринарных наук, кн. 1 и 2, 1905.
3. Улендеев А. И. Влияние ацидофильных бактерий на микробную флору желудочно-кишечного тракта лошади. Диссертация, 1949.
4. Choukewitch I. Etudes de la flore bactérienne du gros intestin du cheval. Ann. Inst. Pasteur, 25, 247, 345, 1911.
5. Hopffe A. Beitrag zur Kenntnis der normalen Magen-Darm Flora des Pferdes, unter besonderer Berücksichtigung der Anaeroben Proteolyten, Z. Infectionskrankheiten, 14, 1913.
6. Huber E. Beitrag zur Bakteriologie des normalen Pferdedarms u. s. w. Inaug. Dissert., Leipzig, 1910.

ЖЕЛТУХА ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА И СПОСОБЫ ЛИКВИДАЦИИ ЕЕ В ПРОМЫШЛЕННЫХ ВЫКОРМКАХ

О. И. Швецова

Решающее значение пищевого фактора в массовых вирусных заболеваниях насекомых было выявлено нами в основном при исследовании полиэдренной болезни пчелиной моли [1].

Проведенные затем опыты по воспитанию дубового шелкопряда на различном корме показали, что желтуха дубового шелкопряда также находится в прямой зависимости от условий питания [2].

Определяя в листьях кормовых растений содержание общего азота, растворимых углеводов и воды, мы обнаружили определенную зависимость, показавшую, что желтуха дубового шелкопряда возникает после питания гусениц кормом с большим процентом воды, кормом, содержащим недостаточное количество углеводов или азота, а также избыточное количество углеводов или азота.

Эти данные послужили основанием для предположения о ведущей роли указанных компонентов корма в тех нарушениях обмена веществ насекомого, которые обуславливают эпизоотии желтухи дубового шелкопряда на выкормках.

Наряду с углеводами и белками несомненно имеют значение и другие составные части корма, без которых не может осуществляться правильный обмен. Роль разнообразных компонентов листа в заболевании насекомых полиэдренной болезнью исследована недостаточно, и вопрос этот подлежит дальнейшему изучению. Имеющиеся же в настоящее время данные позволяют связать массовые полиэдренные заболевания насекомых и, в частности, желтуху дубового шелкопряда, с определенным соотношением в корме белковых веществ и углеводов.

Для проверки высказанной точки зрения были проведены исследования зависимости заболевания дубового шелкопряда от кормовых достоинств листа как в лабораторных условиях, так и на промышленных выкормках.

Предполагалось, что в различных зонах разведения дубового шелкопряда динамика накопления основных питательных веществ в листьях кормовых растений может в значительной мере варьировать. Закономерная зависимость изменений в химическом составе листьев от климатических и погодных условий, от особенностей почвы, от породы и возраста растений для дубового шелкопряда еще не выяснена. Между тем получение этих данных является необходимым основанием для правильного выбора выкормочных участков, установления наилучших сроков начала выкормки, своевременного перевода гусениц с одного корма на другой и ряда других агротехнических мероприятий.

В настоящем сообщении приводятся результаты наблюдений над заболеванием дубового шелкопряда желтухой на промышленных выкормках в лесу и на опытных выкормках в помещении, проведенных с учетом условий питания гусениц.

Наиболее полные данные в отношении пищевого режима дубового шелкопряда и заболевания желтухой в производственных условиях были получены в колхозах Чернобыльского и Белоцерковского районов Киев-

Таблица 1

Изменения в содержании основных питательных веществ и воды в листьях дуба по ходу развития гусениц дубового шелкопряда и проявление желтухи на выкормках в колхозах

Место и год выкормки	Дата начала и конца выкормки. Продолжительность в днях	Кормовое растение,	Основные питательные вещества	%-ное содержание в абс. сухих листьях для разных гусеничных возрастов					Проявление желтухи в %	
				I	II	III	IV	V	на гусеничной стадии	в куколках
Чернобыльский р-н Киевской обл. 1950 г. Ровное, низкое место. Подзолистая супесчаная почва	7.V—6.VII 60 дн.	Дуб обыкновенный, 4—10 лет, ранний	Общий азот Углеводы * Вода	3,40 4,97 76,2	2,94 4,21 65,2	2,80 4,52 61,9	2,80 5,38 56,5	2,61 5,01 56,8	Желтухи нет	0,5
То же	18.V—5.VII 49 дн.	Дуб обыкновенный, 4 — 8 лет, поздний	Общий азот Углеводы Вода	3,96 3,24 80,6	3,53 3,63 75,0	3,25 4,62 69,3	3,11 4,67 61,8	2,55 5,75 54,4		0,5
Белоцерковский р-н Киевской обл. 1951 г. Северные и восточные склоны холмов. Суглинистый выщелоч. чернозем	5.V—30.VI 56 дн.	Дуб обыкновенный, средн. возраста, ранний	Общий азот Углеводы Вода	5,11 5,03 86,7	3,85 7,48 85,6	3,19 8,58 66,0	2,41 7,33 60,8	1,85 6,89 61,8	Желтуха в V возрасте	50—100
То же	16.V—5.VI 50 дн.	Дуб обыкновенный, средн. возраста, поздний	Общий азот Углеводы Вода	3,24 8,17 74,7	2,73 10,00 67,0	3,20 9,31 64,0	2,92 7,44 61,5	2,19 9,12 62,4		50—100
Майкопский р-н Краснодарского края, 1952 г. Возвышенное, ровное место. Мощный чернозем	8.V—1.VII 54 дн.	Дуб обыкновенный, 6—12 лет	Общий азот Углеводы Вода	3,85 6,72 76,2	3,44 7,21 65,5	3,33 7,50 60,8	2,92 7,30 56,5	2,61 7,85 56,8	Желтухи нет	5,0

Примечание. Процентное содержание общего азота, растворимых углеводов и воды во время питания гусениц разного возраста представляют средние данные из трех определений, сделанных в течение каждого возраста.

* Углеводы растворимые.

ской области (1950 и 1951 гг.) и на племенных выкормках в Краснодарском крае (1952 г.).

Лабораторные выкормки проводились в эти же годы в Ленинградской области в гор. Пушкине и в Рощине. Кормовая база на производственных выкормках варьировала в отношении расположения участков, почвенных разностей, возраста и рас дуба. Наличие разных рас дуба давало возможность изменять режим питания дубового шелкопряда. В колхозах Киевской области гусеницы выкармливались отдельно на ранней и поздней расах дуба, производилась пересадка гусениц пятого возраста с раннего на поздний дуб и, наоборот, с позднего на ранний, а также с молодых кустов на старовозрастные деревья.

Погодные условия во время выкормок в перечисленных колхозах были очень сходными: весна была холодной и затяжной, во время прохождения первых трех гусеничных возрастов наблюдались заморозки. Из-за холодной погоды выкормки длились от 54 до 60 дней.

В лабораторных условиях гусеницы выкармливались на букетах дуба в отапливаемом помещении или в больших садках. Температура в среднем составляла 20—23° днем и 15—18° ночью.

В табл. 1 приведены данные по содержанию основных питательных веществ в листьях дуба и заболеванию дубового шелкопряда желтухой на промышленных выкормках в колхозах.

Наилучшие результаты в условиях леса были получены в Чернобыльском районе в 1950 г. Среди гусениц не наблюдалось заболеваний желтухой, а коконы в основном были первосортными.

Это относится к выкормкам, проведенным как на раннем дубе, так и на позднем. Не было проявления желтухи также при переводе гусениц в начале пятого возраста с раннего дуба на поздний и обратно с позднего на ранний.

Рассматривая показатели, относящиеся к киевским образцам 1950 г., в частности к раннему дубу, можно отметить умеренное (в среднем 2,9%) содержание в листьях общего азота, постепенное и равномерное возрастание углеводов и столь же постепенную убыль воды за время выкормки гусениц. Изменения в содержании основных веществ в листьях позднего дуба несколько иные: здесь гусеницы более продолжительное время получали лист с повышенным содержанием азотистых веществ. Однако ввиду ускоренных темпов созревания листьев позднего дуба, а в связи с этим и более быстрого накопления в них растворимых углеводов количественное соотношение основных ингредиентов оставалось таким же, как при питании ранним дубом. Перевод гусениц с позднего дуба на ранний, так же как и с раннего на поздний, в начале пятого возраста не мог вызвать существенных изменений в режиме питания шелкопрядов, так как различия в листьях двух рас дуба к этому времени сгладились.

Сравнивая динамику накопления основных питательных веществ в листьях дуба ранней и поздней расы, можно видеть, что они отличаются главным образом по времени своего созревания. Что же касается количественного содержания азота, углеводов и воды, а также изменений в содержании этих веществ по мере вегетации, то они сохраняют особенности, характерные для места их произрастания.

Результаты выкормки не изменились также при переводе гусениц с молодых кустов на старовозрастные деревья.

Из приведенных в табл. 2 данных анализа листьев старовозрастных деревьев и молодых 4—6-летних кустов дуба, произраставших на том же выкормочном участке, видно, что содержание в них основных веществ почти одинаковое.

Таким образом, отсутствие желтухи и одинаковые результаты, полученные при выкормке дубового шелкопряда в разные сроки, на разных расах дуба и на растениях разного возраста, могут быть объяснены одинаковым пищевым режимом, который при этих условиях создавался.

Таблица 2

Сравнительное содержание основных питательных веществ и воды в листьях старовозрастных и молодых дубов, произрастающих в одинаковых экологических условиях

(1950 г. колхоз им. Жданова Чернобыльского р-на Киевской обл.)

Возраст растений позднего дуба	Дата взятия образца	%-ное содержание в абс. сухом веществе		Влажность листьев
		общего азота	растворимых углеводов	
Старовозрастные деревья	29.V	3,35	5,74	71,68
	12.VI	3,15	5,70	57,58
	26.VI	2,93	5,35	55,73
Кусты 4—6 лет	29.V	3,15	4,04	73,95
	12.VI	3,23	4,62	69,36
	26.VI	2,85	5,75	54,45

Как видно из приведенных в табл. 1 данных, желтуха отсутствовала также на гусеничной стадии на выкормках в Майкопском районе Краснодарского края в 1952 г. Полученные коконы были достаточно высокого качества. По содержанию основных питательных веществ в листьях дуба и по изменениям, происходящим в них по мере развития гусениц, условия майкопской выкормки мало отличаются от таковых чернобыльской, за исключением более высокого содержания в листьях растворимых углеводов. Здесь можно отметить такое же умеренное содержание общего азота и постепенную убыль воды в листьях кормовых растений за время выкормки.

В Белоцерковском районе Киевской области выкормки закончились с иными результатами. В пятом возрасте появилось большое количество больных желтухой гусениц, а коконы оказались пораженными этой болезнью более чем на 50%. Гибель от желтухи наблюдалась как при кормлении ранним, так и поздним дубом. Обращаясь к данным содержания основных питательных веществ в листьях дуба, можно отметить следующие особенности в пищевом режиме гусениц на этой выкормке. Во всех возрастах гусеницы получали лист с недостаточным количеством азотистых веществ (из расчета содержания их в свежих листьях); количество углеводов, наоборот, было довольно высоким, что при недостатке в корме азота создавало неблагоприятное соотношение этих компонентов в корме.

В связи с рассмотренными данными появление желтухи в пятом возрасте, а также большой процент больных куколок на этой выкормке мы считаем следствием кормления неполноценным листом, не соответствующим потребностям гусениц определенного возраста. Следует отметить сходство в содержании питательных веществ в листьях раннего и позднего дуба, произрастающих на этом выкормочном участке. Здесь имеет место та же зависимость качества листа от условий произрастания растений, которую мы отмечали в Чернобыльском районе; разные расы в данной экологической обстановке близки по химическому составу.

Сложившийся в этих условиях неблагоприятный режим питания гусениц не мог обеспечить полноценных насекомых и должен был сказаться на той части насекомых, которые уцелели от желтухи и завили коконы. Мы допускали возможность вспышки желтухи в следующем поколении и для проверки этого предположения провели осеннюю выкормку.

Почти все гусеницы погибли, причем болезнь проявилась в одинаковой степени в двух колхозах, в которых испытывались эти партии.

Таблица 3

Изменения в содержании основных питательных веществ и воды в листьях дуба и березы по ходу развития дубового шелкопряда и проявление желтухи на опытных выкормках в помещении

№ опыта	Место и год выкормки	Дата начала и конца выкормки и продолжительность в днях	Кормовое растение	Основные питательные вещества	%-ное содержание в абс. сухих листьях в различных возрастах гусениц					К-во опытных гусениц	Гибель от желтухи			
					I	II	III	IV	V		гусениц		куколок	
											к-во	%	к-во	%
1	Пушкин Ленинградской обл., 1949	21.V—7.VII, 47 дн.	Дуб *	Общий азот	3,41	3,29	3,42	3,17	3,00	60	3	5,0	13	21,6
				Углеводы	4,31	4,25	3,61	4,02	5,07					
				Вода	74,90	69,20	65,50	62,70	58,20					
2	То же, 1949	12.VI—4.VII, 53 дня	Береза **	Общий азот	2,62	—	2,37	2,98	2,71	36	3	8,3	0	0
				Углеводы	4,92	—	5,21	4,72	5,32					
				Вода	62,30	—	60,00	60,40	59,80					
3	То же, 1950	9.V—27.VI, 49 дн.	Дуб	Общий азот	5,65	5,40	4,10	3,51	3,07	187	15	8,0	66	35,3
				Углеводы	2,40	1,06	6,18	7,00	5,82					
				Вода	68,60	74,60	72,10	61,60	62,90					
4	То же, 1950	9.V—27.VI, 49 дн.	Береза	Общий азот	5,00	3,24	4,12	3,28	2,68	95	19	20,0	24	25,3
				Углеводы	5,50	6,61	13,31	9,88	7,16					
				Вода	67,60	68,20	71,60	64,50	62,40					
5	То же, 1951	25.V—7.VII, 43 дня	Дуб	Общий азот	6,00	4,87	3,47	3,38	3,00	110	14	13,6	5	4,5
				Углеводы	8,58	6,84	9,76	9,33	9,79					
				Вода	69,30	74,90	75,40	64,80	61,30					
6	То же, 1952	31.V—10.VII, 40 дн.	Дуб	Общий азот	4,81	4,22	4,30	3,40	3,23	106	8	7,5	13	12,3
				Углеводы	3,95	9,50	8,95	10,00	8,71					
				Вода	74,70	76,30	69,60	59,90	54,30					
7	То же, 1952	31.V—10.VII, 40 дн.	Береза	Общий азот	4,71	4,22	2,81	2,61	2,83	80	4	5,0	6	7,5
				Углеводы	2,55	8,39	8,13	8,42	6,41					
				Вода	74,10	70,30	71,10	49,80	55,20					
8	Рощино Ленинградской обл., 1952	31.VI—1.VII, 40 дн.	Дуб	Общий азот	5,00	4,31	3,61	3,39	3,36	130	130	100,0	—	—
				Углеводы	4,83	3,80	6,21	8,79	6,96					
				Вода	78,00	74,00	72,20	70,80	66,50					
9	То же, 1952	31.VI—5.VII, 40 дн.	Береза	Общий азот	4,59	3,73	3,25	3,24	2,49	46	3	6,5	15	32,6
				Углеводы	8,23	9,83	10,39	6,68	8,20					
				Вода	70,90	72,70	71,60	65,70	60,70					

* Дуб обыкновенный, старовозрастные деревья.
** Береза бородавчатая, старовозрастные деревья.

Эти данные подтвердили, что качество корма в весеннюю выкормку имеет существенное влияние на заболевание гусениц желтухой осенью. В связи с этим особенно большое внимание должно быть уделено созданию благоприятного режима питания во время весенних выкормок. Следует считать также недопустимым отбор племенных коконов для осенней выкормки из мест, где имела место желтуха даже в небольшом проценте.

Результаты выкормки дубового шелкопряда в лабораторных условиях представлены в табл. 3.

Данные таблицы по содержанию основных питательных веществ в листьях дуба и березы относятся к свежесрезанным растениям. Определения влажности, сделанные через сутки после стояния веток в воде, показали, что содержание воды в листьях может повыситься в зависимости от зрелости листа и влажности воздуха на 1—4%. В связи с этим приведенные данные правильно отражают изменения химического состава листьев в соответствии с ходом вегетации растений, о пищевом же режиме гусениц позволяют судить лишь с относительной точностью.

Как видно из графы «гибель от желтухи» (табл. 3), больные гусеницы и коконы имелись на всех выкормках. Однако из приведенного списка можно выделить более здоровые выкормки, проведенные в Пушкине, например, в 1949 г. на березе (опыт 2), в 1951 г. на дубе (опыт 5), в 1952 г. на дубе и березе (опыт 6, 7). Все остальные выкормки дали худшие результаты. Особенно обращает внимание полная гибель гусениц от желтухи в Рощине, наблюдавшаяся при кормлении гусениц листьями дуба.

Рассматривая содержание основных питательных веществ в листьях разных выкормок, проведенных в помещении, можно отметить, что наиболее здоровая выкормка характеризуется невысоким содержанием азота и углеводов. Высокие цифры содержания азота и углеводов в листьях и неравномерное изменение их с возрастом гусениц наблюдаются на выкормках, закончившихся с худшими результатами по желтухе. Повидимому, это связано с неблагоприятным соотношением углеводов и белков в корме, способствующим нарушению нормального обмена веществ насекомых.

Сравнивая выкормки, проведенные на дубе и березе в один и тот же год, в одном и том же месте, можно отметить известное соответствие в полученных результатах. Сходство сказывается в динамике накопления основных питательных веществ в листьях кормовых растений, особенно наглядно проявляется в изменении содержания в листьях воды, а также в размерах заболевания желтухой.

Так, в 1949 г. в Пушкине дуб и береза имели умеренные показатели по всем основным питательным веществам; исход выкормки в отношении желтухи был удовлетворительным. В 1950 г. и дуб и береза отличались неравномерным содержанием углеводов, высокими показателями влажности корма; результаты выкормки характеризуются значительным процентом желтушных коконов. В 1952 г. имелась возможность сравнить пищевой режим на выкормках, проведенных одновременно и с одинаковым материалом в Пушкине и в Рощине. В Пушкине наблюдалась умеренная влажность листьев дуба и березы, выкормки закончились с хорошим результатом, дав небольшой процент больных гусениц и куколок. В это же время в Рощине наблюдалась высокая влажность листьев дуба и березы в течение всего периода питания гусениц. Особенно высока была влажность листьев дуба. Выкормка в Рощине закончилась полной гибелью гусениц, воспитывавшихся на дубе, и частичной при кормлении березой.

Выкормки, проведенные в помещении, так же как и выкормки в лесу, показали, что в зависимости от изменения режима питания изменяется заболеваемость насекомых желтухой. Вместе с тем они показали, что качество корма и складывающийся в зависимости от этого режим питания

гусениц зависят от места произрастания кормового растения. Известное влияние на режим питания и исход выкормки оказывают также погодные условия данного сезона, изменяющие ход накопления питательных веществ в растениях.

Сопоставление химического состава листьев с результатами выкормок позволило наметить условия питания гусениц, при которых идет нормальное развитие дубового шелкопряда и исключается возможность заболевания его желтухой.

В табл. 4 приведены показатели качеств листьев, соответствующие разным возрастам гусениц, которые можно принять за оптимальные и использовать для оценки достоинств корма.

Таблица 4

Содержание основных питательных веществ и воды в листьях кормовых растений на лучших весенних выкормках дубового шелкопряда

Возраст гусениц	%-ное содержание воды в свежем листе	К-во съедаемого листа в г на 1 гусеницу	Общий азот в %		Растворимые углеводы в %		Отношение углеводов к азоту
			в свежих листьях	в абс. сухих листьях	в свежих листьях	в абс. сухих листьях	
I—II	78—65	1—1,5	1,2—0,9	5,45—2,58	1,5	6,81—4,27	1,2—1,6
III	68—58	2,0—3,0	1,2	3,75—2,85	2,0—1,8	6,25—4,28	1,6—1,5
IV	60—55	7—10	1,3—1,2	3,25—2,66	3,0—2,5	7,50—5,55	2,3—2,0
V	58—51	30—40	1,3—1,3	3,00—2,44	3,5—3,0	8,33—6,12	2,7—2,5

Приведенные в таблице показатели могут быть получены только после химического анализа листьев и, следовательно, доступны лишь специальным лабораториям. Для производственных целей необходимы более простые способы определения качества корма. Соответствие, обнаруженное между содержанием в листьях воды и исходом выкормки, позволяет использовать для оценки режима питания дубового шелкопряда показания влажности листьев по мере развития гусениц. Этот способ мы рекомендуем для практического применения на выкормках. Причину заболевания гусениц желтухой при большом содержании в листьях воды мы видим не только в общем недостатке питательных веществ в корме, но главным образом в ненормальной физиологической деятельности растений, в результате которой нарушается соотношение как основных питательных веществ, так и всех остальных необходимых для питания насекомых компонентов листа.

Таким образом, изменение влажности листьев по мере развития гусениц является, с нашей точки зрения, косвенным показателем качества корма, который можно использовать для прогноза желтухи и принятия соответствующих мер к ее устранению.

Затронутые нами вопросы, касающиеся режима питания и его значения в заболевании дубового шелкопряда желтухой, относятся в основном к весенним выкормкам. Вопрос об условиях заболевания гусениц в период повторных выкормок требует дополнительных наблюдений.

Выводы

1. Зависимость заболевания дубового шелкопряда желтухой от качества корма изучалась в лабораторных и промышленных выкормках. Наиболее здоровые насекомые в условиях весенних выкормок получены при невысоком содержании в листьях азота и углеводов (азота 1,2—1,3%, углеводов 1,3—3,0% в свежих листьях) и равномерном снижении влажности листьев по мере роста гусениц.

2. Качество листа и его соответствие оптимальным требованиям, предупреждающим желтуху, зависят от особенностей места произрастания растений, в частности от характера почвы, расположения участка и насаждений на нем, частично также от погодных условий. Возраст и расы дуба не имеют существенного значения для проявления желтухи, если условия произрастания благоприятны и при этом соблюдаются правильные сроки выкормки гусениц.

3. По предварительным данным, качество корма в весеннюю выкормку имеет существенное влияние на заболевание дубового шелкопряда желтухой осенью. В целях ликвидации желтухи на выкормках дубового шелкопряда в весенний период должен быть создан наиболее благоприятный режим питания. В этой связи недопустим также отбор племенных коконов для осенней выкормки из мест, где наблюдалась желтуха весной.

4. В результате исследования режима питания дубового шелкопряда на весенних выкормках в различных климатических, погодных и почвенных условиях установлено, что между изменением влажности листьев по мере развития дубового шелкопряда и содержанием необходимых питательных веществ в корме имеется постоянная зависимость. Это дает основание для использования показателей влажности листа в целях прогноза желтухи, своевременного улучшения условий питания и устранения тем самым заболевания.

Всесоюзный институт
защиты растений
Ленинград

Получено 25. IX. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Швецова О. И. Полиэдренная болезнь большой пчелиной моли (Galleria mellonella L.) и роль пищевого фактора в вирусных заболеваниях насекомых. Микробиология, т. XIX, вып. 6, 1950.
2. Швецова О. И. Роль кормового режима в заболевании дубового шелкопряда желтухой. Тр. пленумов секции шелководства, посвященные разведению дубового шелкопряда в 1949, 1950 и 1951 гг.
3. Швецова О. И. Методические указания по режиму питания дубового шелкопряда в целях ликвидации желтухи. Изд. ВИЗР, 1953.

НЕКОТОРЫЕ ДИСКУССИОННЫЕ ВОПРОСЫ В ОБЛАСТИ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

М. М. Кононова

Многообразное значение микроорганизмов в жизни почвы и ее плодородии в настоящее время не вызывает сомнений. Ряд важнейших процессов, как-то: выветривание минералов, характер круговорота углерода, азота, фосфора и прочих элементов, образование и разложение перегноя, создание водопрочной структуры почвы и другие явления теснейшим образом связаны с деятельностью микроорганизмов.

Открытая блестящими работами выдающихся русских микробиологов — С. Н. Виноградского и В. Л. Омелянского, почвенная микробиология к настоящему времени усилиями многих зарубежных и отечественных ученых выросла в большой и важный раздел почвоведения и земледелия.

Особенно интенсивно протекали исследования в области почвенной микробиологии в последние десятилетия в Союзе ССР, где микробиологи включились в решение ряда конкретных проблем, связанных с повышением плодородия почвы.

Несомненно, что в различных вопросах почвенной микробиологии к настоящему времени имеются существенные достижения. Но совершенно очевидно и то, что в развитии ряда важных разделов этой дисциплины имеется отставание, чем в значительной мере может быть объяснена недостаточная помощь со стороны микробиологов при решении вопросов сельскохозяйственного производства.

Причины создавшегося положения различны. Одна из них заключается в большой трудности исследований в области почвенной микробиологии. Ведь сама по себе почва — это чрезвычайно сложное тело, где состав микрофлоры, равно как и ее функции, определяются растительным покровом, физическими и химическими свойствами, гидротермическими условиями, а также взаимоотношениями отдельных групп микроорганизмов. Поэтому почвенная микробиология является одним из наиболее сложных разделов микробиологии.

Наряду с этим слабое развитие исследований в области некоторых проблем почвенной микробиологии является следствием недостаточного к ним внимания со стороны микробиологов, а в ряде случаев и наличием ошибочных взглядов.

Отзываясь на призыв Редколлегии журнала «Микробиология», открывшей дискуссию по вопросам почвенной микробиологии статьей Я. П. Худякова «Современное состояние и задачи почвенной микробиологии», я считаю необходимым высказать свое мнение по некоторым вопросам, затронутым в указанной статье.

Уместно отметить, что Худяков ограничился преимущественно констатацией недостатков, имеющих место в современной почвенной микробиологии. Было бы очень ценным услышать от Худякова, являющегося одним из ведущих работников Всесоюзного института сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ, и о тех конкретных путях, которые способствовали бы развитию теоретических положений почвенной микробиологии и приложению их в области сельского хозяйства. Эти вопросы не нашли должного отражения в статье Худякова.

О путях регулирования микробиологических процессов в почве

Справедливо указывает Я. П. Худяков, что управление микробиологическими процессами в почве является одной из важнейших задач земледелия. Каковы же пути, которые намечаются микробиологами для решения этой задачи?

Приняв за основу положение современного почвоведения, исходящее от Докучаева, Костычева, Вильямса о ведущей роли в развитии почв и их плодородии биологических факторов (растительности и микроорганизмов), микробиологи сосредотачивают главное внимание на изучении системы растение — микроорганизмы и возможности регулирования их деятельности посредством растения.

Последнее основывается на работах Исаковой (1940), Красильникова (1944, 1953), Березовой (1949, 1951) и ряда других исследователей, установивших явление отбора микроорганизмов под различными растениями, что объясняется различной природой корневых выделений.

Нет оснований отрицать значение селекционирующей роли растений; однако микробиологи допускают серьезную ошибку, забывая при этом о значении свойств почвы и приемов агротехники, влияние которых на почвенную микрофлору в ряде случаев перекрывает специфическое воздействие растения. В качестве примера сошлюсь на вышецитированные работы Красильникова, согласно которым на орошаемых сероземах люцерна якобы оказывает более благоприятное влияние на развитие азотобактера, чем хлопчатник. Между тем Квасников и Петрушенко (1951), а также Набиев (1954) очень убедительно показали, что количество азотобактера и его биохимические свойства под указанными культурами теснейшим образом связаны с агротехникой (удобрениями, режимом поливов и пр.), и потому на высоких агротехнических фонах в почве под хлопчатником количество азотобактера и его активность не уступают таковым под культурой люцерны.

Недооценка микробиологами значения почвенной среды для развития микроорганизмов сказывается в такой важной проблеме почвенной микробиологии, как применение бактериальных удобрений.

И несомненно, что в ряде случаев отсутствие эффективности от применения бактериальных удобрений является результатом игнорирования необходимости дифференцирования этого мероприятия с учетом свойств почвы и климатических условий.

Искусственно отрывая систему растение — микроорганизмы от почвенной среды, микробиологи не уделяют должного внимания возможности регулирования деятельности микробов приемами агротехники. Между тем имеющиеся материалы по влиянию влажности, температуры, аэрации, органических веществ на микробиологическую деятельность могут быть успешно использованы для решения вопроса о путях воздействия на нее при помощи тех или иных приемов агротехники.

Приемы изучения деятельности микроорганизмов в почве

На неблагополучие с методами характеристики микробиологической деятельности в почве справедливо указывает в своей статье Худяков. Однако не могу с ним согласиться, что главная беда в этом вопросе якобы заключается в стремлении микробиологов судить о поведении микроорганизмов в почве по результатам изучения их в чистой культуре. Едва ли в настоящее время найдется микробиолог, допускающий отождествление условий питательной среды с почвой, равно как и механическое перенесение результатов изучения микроорганизма в чистой культуре без соответствующих поправок на почву.

Примеры «микробиологических парадоксов», приведенные Худяковым

в развитие своей мысли, требуют особого рассмотрения. Укажу лишь, что большинство их неудачно и даже неправильно. К числу последних относится отрицание Худяковым зависимости микробиологической деятельности от температуры; работа Ваксмана (и Герретсена) 1931 г. им процитирована неправильно, так как именно в этой работе очень четко показана зависимость энергии разложения органических веществ от температурных условий. Также неправильно суждение о коэффициенте гумификации растительных остатков только по количеству ресинтезированной бактериальной плазмы без учета, что в синтезе молекул гумусовых веществ принимают участие наряду с элементами плазмы микроорганизмов также и продукты распада растительных остатков. Вызывает также недоумение сопоставление сбраживания сахара в колбе с процессом гумификации растительных остатков в почве. Эти, равно как и другие примеры «микробиологических парадоксов», приведенные Худяковым, отнюдь не способствуют разъяснению поставленного им вопроса — невозможности суждения о микробиологических процессах в почве по изучению деятельности микроорганизмов в чистой культуре.

По нашему мнению, отсутствие методов для характеристики деятельности микроорганизмов в почве порождено недостаточным вниманием микробиологов к изучению биохимии микробиологических процессов.

Внимание микробиологов в настоящее время направлено преимущественно на изучение микроорганизмов: общего количества, учета по физиологическим группам, а также видового состава.

Исследование микрофлоры почвы по обрастанию стекол методом Росси-Холодного дает ценное представление об экологических группировках микроорганизмов в почве. Но и этот прием не позволяет судить о характере микробиологической деятельности.

Что же касается приема Н. М. Лазарева изучения биоорано-минерального комплекса, высоко оцениваемого Худяковым как новый путь в изучении экологии почвенных микроорганизмов, то позволительно указать, что по идее представление Лазарева о различных системах «организмы — среда» заслуживает внимания. Однако метод определения биоорано-минерального комплекса, основанный на химических (и к тому же «жестких») приемах воздействия на почву щелочами и кислотами, является чисто эмпирическим и лишь по недоразумению считается некоторыми исследователями как прием, знаменующий развитие экологического направления в почвенной микробиологии. Микробные же группировки, предложенные Лазаревым, включают микроорганизмы с самыми разнообразными функциями, что лишает их основного признака, принятого Лазаревым,— специфичности для той или иной почвенной системы.

Я отнюдь не склонна отрицать целесообразность изучения группового и видового состава почвенной микрофлоры и микробных ассоциаций. Такие исследования дают ценные представления о микрофлоре различных почв и вместе с тем помогают решать некоторые агрономические вопросы. Например, глубина вспашки и приемы углубления с целью создания мощного, биологически активного пахотного слоя в различных почвенных зонах в известной мере определяются распределением микроорганизмов по почвенному профилю и биогенностью подпахотного и пахотного слоев. Также заслуживает внимания попытка Мишустина использовать видовой состав микроорганизмов в качестве индикатора на присутствие в почве некоторых органических веществ (1953, 1954).

Но даже самое полное и тщательное изучение количества и состава микрофлоры дает лишь очень приближенное представление о потенциально возможной ее деятельности и участии в тех или иных почвенных процессах.

Внимание микробиологов почти не привлекает изучение биохимии

микробиологических процессов и характера деятельности микробов в почве.

Не занимают микробиологов вопросы балансового порядка, хотя они в значительной мере служат реальным показателем участия микроорганизмов в круговороте тех или иных веществ.

В этом отношении показательно выступление Красильникова на конференции по вопросам почвенной микробиологии, в котором им был специально выделен исключительно важный вопрос «Проблема азотного баланса» (1953). Однако фактически этот вопрос был сведен лишь к изложению данных по распространению бактерий — фиксаторов азота под разными сельскохозяйственными культурами, без каких-либо указаний на конкретную роль этих организмов в балансе почвенного азота. По нашему глубокому убеждению, до тех пор, пока микробиологи будут ограничиваться изучением только микроорганизмов, обходя вопросы биохимии процессов, а также вопросы участия микроорганизмов в балансе тех или иных веществ, они будут бессильны в суждениях о реальной деятельности микроорганизмов в почве, а тем самым будут беспомощны в разработке приемов регулирования микробиологической деятельности.

Мне могут возразить, что почва является сложной средой и суждение о ходе того или иного процесса маскируется сопряженными процессами. Это замечание справедливо. Например, динамика минеральных форм азота (NH_3, NO_3, NO_2) в почве является результатом следующих процессов: а) нитрификации, б) денитрификации, в) потребления этих соединений растением и микроорганизмами, г) и, наконец, миграцией их по почвенному профилю.

И тем не менее, как всякая результирующая многих явлений, динамика содержания NO_3, NO_2, NH_3 в почве отражает ведущее явление — напряжение процесса мобилизации азотного фонда почвы микроорганизмами, что является чрезвычайно важным для суждения о степени обеспечения растения этими соединениями за счет почвенных ресурсов.

Точно так же динамика CO_2 почвенного воздуха является результирующей: а) энергии дыхания микроорганизмов и корней растения, б) потребления CO_2 корнями и автотрофными (а частично и гетеротрофными) микроорганизмами, в) диффузии CO_2 из почвенного воздуха в атмосферу. Но вместе с тем определение в динамике CO_2 почвенного воздуха является достаточно четким показателем весьма важного биологического процесса — энергии распада органических веществ почвы.

Конечно, изучение динамики тех или иных веществ и соединений (перегноя, общего количества азота и его минеральных форм и пр.), как дающее лишь результативное представление о комплексе процессов, не может считаться совершенным приемом, характеризующим деятельность тех или иных групп микроорганизмов. Но не следует им пренебрегать, одновременно направив внимание и изобретательность на разработку более тонких методов исследования.

Микроорганизмы и вопросы питания растений

В настоящее время вопрос о механизме питания растений является дискуссионным. Достаточно распространено мнение, что питание растений происходит преимущественно в форме минеральных соединений, причем в соответствии с работами Шулова, Петрова и некоторых других исследователей, проведенными в стерильных культурах, допускается возможность использования некоторых органических соединений в качестве источника азота и фосфора.

Согласно этим представлениям, микроорганизмы выполняют роль агентов, превращающих неусвояемые органические вещества в минераль-

ные формы, доступные растению. Исключением является симбиотрофный тип питания у бобовых и микотрофный у растений, обладающих микоризой.

Высказывается и прямо противоположная точка зрения, исходящая из Всесоюзного института сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ (Доросинский и Лазарев, 1949; Доросинский, 1953; Березова, 1953), согласно которой питание растений происходит при прямом участии микроорганизмов, превращающих минеральные соединения в какие-то иные формы, усваиваемые растением. Так, Доросинский и Лазарев (1949), указывая на существование непосредственной связи между растением и микрофлорой почвы, делают следующий вывод: «усвоение растением вносимых в почву минеральных удобрений не может происходить вне этой связи. Элементы этих удобрений, поглощенные микроорганизмами, связывающиеся с веществами почвы в ходе дальнейших биологических процессов, превращаются в естественную пищу растений».

В несколько более осторожной форме этот вывод повторен Доросинским в последней работе (1953): «Вносимые в почву удобрения, в е р о я т н о (разрядка наша.— *М. К.*), поступают в растения не непосредственно, а являются материалом, из которого в почве образуется усвояемая пища, очень сложная по своему составу, являющаяся в основном продуктом жизнедеятельности почвенной микрофлоры».

Высказанные указанными авторами взгляды о питании растений через посредство микроорганизмов вызывают недоумение, так как они находятся в противоречии с их же исследованиями. Укажу на работу Лазарева и Доросинского (1953), где в условиях стерильных и нестерильных водных культур овес развивался и усваивал минеральные вещества и в отсутствие микроорганизмов.

Широко пропагандируется идея корневого питания растения через посредство микроорганизмов акад. Т. Д. Лысенко (1953, 1954). Он пишет: «Можно сказать, что соответствующие почвенные микроорганизмы для корневого питания растений выполняют ту же функцию, что и пищеварительная система у животных» (см. «Задачи науки о почвенном питании растений» (1953), а также статью в газете «Известия» от 20.II.1954 г. «Об обработке целинных и залежных земель»). Аналогичные взгляды сформулированы и Красильниковым, который утверждает (1954), что растение питается веществами, значительно измененными и переработанными в биологически-активном слое ризосферы, насыщенном микроорганизмами.

Однако эти представления находятся в противоречии с существующими материалами, освещающими механизм питания растения, как-то: питание растений минеральными соединениями в условиях стерильных культур (Шулов), возможность питания растений путем обменной адсорбции и фиксации поглощенных ионов протоплазмой клетки (Сабинин, Колосов). Большой интерес представляют современные исследования с применением меченых атомов, в которых установлена высокая скорость поступления ряда соединений из питательной среды в растение, исключающая возможность предварительного превращения их в бактериальной клетке.

В качестве примера можно сослаться на работу Арнона (Arnon, 1940), который обнаружил P^{32} в верхушке 15-сантиметрового растения томата через 40 минут после добавления в среду радиофосфора. Представляют интерес исследования Борисовой (1952), которая при погружении корней кукурузы (предварительно выращенной на среде Гельригеля) в среду, содержащую P^{32}, обнаружила последний в надземной части растения уже на двадцатой минуте, а у гороха на пятидесятой от начала опыта. Подобного рода примеры не единичны.

Такая скорость поступления P^{32} в растение может быть объяснена лишь прямым усвоением его растением, минуя бактериальную клетку, так как превращение в последней P_2O_5 (поглощение и особенно высво-

бождение в процессе обмена веществ и после отмирания клетки) имеет более длительный характер. Об этом свидетельствует ряд работ микробиологов с изотопами P^{32}, C^{14}, S^{35}.

Однако критическое отношение к представлению о питании растения при непосредственном участии микроорганизмов не может служить основанием для признания теории минерального питания в духе Либиха.

Советскими и зарубежными исследователями накоплено большое число фактов, мимо которых нельзя пройти. Они свидетельствуют о положительном воздействии на развитие растения ряда органических веществ, которые представляют собой продукты распада растительных и животных остатков, и специфические продукты жизнедеятельности микроорганизмов в форме витаминов (тиамина, никотиновой и аскорбиновой кислот и др.), а также стимуляторов роста (производных органических кислот ароматического строения). Соответствующие обзоры литературы приведены в статьях Исаковой (1939), Красильникова (1940, 1952), Ракитина (1953), Овчарова (1953) и других авторов.

Вещества этой природы выполняют важнейшую роль в обмене веществ и в других жизненных процессах растения. Представляет интерес наблюдение Исаковой (1939), согласно которому предварительная обработка семенного материала ячменя культурой азотобактера повысила активность каталазы семян нового урожая.

К этой же категории явлений, повидимому, относится стимуляция развития растений своеобразными продуктами жизнедеятельности микроорганизмов — гумусовыми веществами. Этот вопрос привлекает внимание исследователей уже более двух десятилетий (обзоры литературы приведены в работах Христевой, 1951; Кононовой, 1951; Никишкиной, 1954, и др.).

В результате проведенных советскими и зарубежными исследователями работ установлено, что в присутствии малых доз перегнойных веществ в высокодисперсных (воднорастворимых) формах наблюдаются следующие явления: активируется скорость прорастания семян, развитие корневых систем, поступление питательных веществ в растение из почвы и удобрений, что в конечном итоге приводит к повышению урожайности.

Столь важные явления станут понятными, если учесть, что гуминовые кислоты оказывают глубокое воздействие на физическое состояние протоплазмы и биохимизм растения. Так, установлено, что гуминовые кислоты повышают проницаемость клеточной оболочки (Прозоровская, 1936), а также активизируют ферментативные и, в частности, окислительно-восстановительную систему растения (Христева, 1951).

Так, в настоящее время физиологи растений, агрохимики, почвоведы и микробиологи разными путями подошли к очень важному и ответственному представлению, что питание растений имеет характер органо-минерального питания.

В современных представлениях о питании растения исключительная роль принадлежит микроорганизмам; она заключается не только в превращении органических веществ в минеральные — усвояемые растением формы, но и в образовании специфической природы продуктов жизнедеятельности — витаминов и стимуляторов роста.

Результаты исследований в области питания растений и участия в нем микроорганизмов представляют чрезвычайный интерес и, несомненно, найдут широкое применение в практике сельского хозяйства как при изготовлении органоминеральных форм удобрений, так и при применении стимуляторов роста, а также подкормок растений витаминами.

В заключение я хочу присоединиться к мнению Худякова, что большинство недостатков в области изучения почвенной микрофлоры является «болезнями роста» этой сравнительно молодой науки. Но следует

опасаться, чтобы «болезни роста» не превратились в органические недостатки.

В выборе дальнейших путей исследований исключительно важным является творческое овладение наследием отечественной и мировой науки.

К решительной борьбе с догматизмом призывает работников науки наша партия, указывая, что эта борьба является условием творческого развития науки в неразрывной связи с практикой строительства коммунизма.

Почвенный институт
Академии наук СССР
Москва

Получено 28. IV. 1954 г.

ЛИТЕРАТУРА

Березова Е. Ф. Микрофлора ризосферы льна. Тр. Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиол. ВАСХНИЛ за 1941—1945 гг., изд. 1949.

Березова Е. Ф. О роли микроорганизмов в питании растений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений». Сельхозгиз, 1953.

Березова Е. Ф. и Рempe Е. Х. Микрофлора корневой системы растений и методы ее изучения. Тр. Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиол. ВАСХНИЛ, т. XII, 1951.

Борисова Н. И. Применение радиоактивного изотопа фосфора P^{32} при агрохимических исследованиях. Диссертация на соискание уч. степени канд. с.-х. наук. Защищена в Почвенном ин-те АН СССР в 1952 г.

Доросинский Л. М. и Лазарев Н. М. Роль микроорганизмов в корневом питании растений. Агробиология, № 4, 1949.

Доросинский Л. М. К вопросу о роли микроорганизмов в корневом питании растений. Сб. «Роль микроорганизмов в питании растений». Сельхозгиз, 1953.

Исакова А. А. О влиянии бактерий ризосферы на развитие растений. Изв. АН СССР, серия биол., стр. 838, 1939.

Исакова А. А. Об отборе корнями растений специфической микрофлоры. Тр. Ин-та физиол. растений им. Тимирязева, III, вып. 1, 1940.

Квасников Е. Н. и Петрушенко О. П. Азотобактер в поливных почвах Узбекистана при травопольной системе севооборота. Доклады АН Уз. ССР, № 5, 1951.

Кононова М. М. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения. Изд. АН СССР, 1951.

Красильников Н. А. Микрофлора ризосферы и ее влияние на рост и урожай растений. Химизация соц. земледелия, № 7, 1940.

Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на микробный состав в почве. Микробиология, XIII, вып. 5, 1944.

Красильников Н. А. Выступление на конференции по вопросам почвенной микробиологии в 1951 г. См. Тр. конференции, изд. АН СССР, 1953.

Красильников Н. А. Роль микроорганизмов в дополнительном питании растений. Успехи совр. биол., XXXIII, вып. 3, 1952.

Красильников Н. А. Микроорганизмы и плодородие почвы. Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 1954.

Лазарев Н. М. и Доросинский Л. М. О роли микроорганизмов в питании растений в условиях водных культур. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиол. ВАСХНИЛ, XIII, 1953.

Лысенко Т. Д. Задачи науки о почвенном питании растений в повышении урожайности сельскохозяйственных культур. Журн. «Земледелие», № 5, 1953.

Лысенко Т. Д. Об обработке целинных и залежных земель. «Известия» от 20 февраля 1954 г.

Мишустин Е. Н. Микроорганизмы и плодородие почвы. Тр. конференции по вопросам почвенной микробиологии, изд. АН СССР, 1953.

Мишустин Е. Н. Закон зональности и учение о микробных ассоциациях почвы. Успехи совр. биол., т. XXXVII, вып. 1, 1954.

Набиев Г. Н. Микробиологическая характеристика природных и окультуренных луговосероземных почв. Диссертация на соискание уч. степени канд. с.-х. наук. Защищена в Почвенном ин-те АН СССР в 1954 г.

Никишкина П. И. Влияние органических и органо-минеральных удобрений на агрохимические свойства дерново-подзолистых почв и урожай растений. Диссертация на соискание уч. степени канд. с.-х. наук. Защищена в Почвенном ин-те АН СССР в 1954 г.

Овчаров К. Е. Значение витаминов в жизнедеятельности растений. Успехи совр. биол., XXXVI, вып. 3 (6), 1953.

Прозоровская А. А. Влияние гуминовой кислоты и ее производных на поступление в растение азота, фосфора, калия и железа. Сб. органо-минеральные удобрения. Тр. НИУИФ, вып. 127, 1936.

Ракитин Ю. В. Проблема стимуляции растений в связи с задачами сельского хозяйства. Успехи совр. биол., XXXVI, вып. 3 (6), 1953.
Христева Л. А. Роль гуминовой кислоты в питании растений и гуминовые удобрения. Тр. Почв. ин-та АН СССР, 38, 1951.
Arnon D. and Sipos E. Radioactive phosphorus as an indicators of phosphorus absorption of tomato fruits. Amer. Journ. of botany, 27, № 9, p. 791, 1940.
Niklewski B. und Wojciechowski J. Über den Einfluss der wasserlöslichen Humusstoffe auf die Entwicklung einiger Kulturpflanzen. J. Bodenkunde u. Pflanzenernährung, 42, H. 1—2, 294, 1937.

МАТЕРИАЛЫ ПО ИСТОРИИ ТЕХНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ. МИКРОБИОЛОГИЯ В ПИВОВАРЕНИИ

И. Л. Работнова

Микробиологических работ, посвященных пивоварению, немного. Однако в русской литературе вопросы микробиологии в пивоварении начали освещаться раньше, чем в любой другой области технической микробиологии. С 1881 по 1886 г. в Москве выходил журнал «Архив русского пивоварения». В этом журнале печатались материалы, освещающие все стороны производства, в том числе и вопросы микробиологии: выделение чистых культур дрожжей, борьба с болезнями пива, применение антисептиков. В ряде статей писалось о выделении чистых культур и о влиянии их на качество пива, о микрофлоре воздуха. Еще в те годы обращалось внимание пивоваров на опасность инфекции при охлаждении сусла на открытом воздухе (на тарелках).

С 1897 по 1905 г. в Петербурге выходил «Вестник русского пивоварения». В нем также освещались все вопросы технологии пивоварения; описывалась практика применения дрожжей чистой культуры на некоторых заводах. На страницах этого журнала указывалось на то, что на больших заводах уже давно применяются чистые культуры; с 1883 г. рекомендовалось практиковать рассылки культур из Петербургской школы пивоварения на мелкие заводы.

Журнал «Русский пивовар», выходивший в 1911—1915 гг., был значительно менее серьезным изданием, и вопросы научного значения в нем не затрагивались.

Вопросы технологии пивоварения, в том числе и микробиологические, очень обстоятельно и на высоком теоретическом уровне изложены в двухтомном труде Тавилдарова (1889). Несколько позже появилась книга Симонова «Пивоварение, квасоварение, медоварение» (1898).

В советский период технология пивоварения изложена в руководстве Куликова, Разумова, Гивартовского и Бобрик «Технология брожения» (1932) и в обширном труде Мальцева «Технология и оборудование пивоваренного производства» (1948).

Однако вопросы микробиологии в этих руководствах едва затронуты.

Микробиологическому контролю производства посвящены две брошюры Рубинштейн (1939 и 1940). В них популярно изложены основы микробиологии и методики микробиологического контроля.

Только в последние десятилетия стали появляться научные статьи, посвященные вопросам микробиологии.

Особый интерес представляют работы Веселова (1952), касающиеся физиологии пивных дрожжей в связи с вопросами производства.

Сбраживание сусла представляет собой комплекс сложных и малоизученных процессов. Производство еще не овладело полностью этими процессами. Поэтому приемы, которыми пользуются в технологии брожения, не исчерпывают всех возможностей, которые заложены и в особенностях дрожжей, и в химических и физико-химических процессах, происходящих при брожении. Изучение всех деталей процессов может привести к еще большему усовершенствованию технологического процесса.

Веселов останавливается на изучении кислородного режима при производстве пива.

Обычно считается, что для размножения дрожжей необходима аэрация. В связи с этим в пивоваренной промышленности принято охлаждать сваренное пивное сусло таким образом, чтобы оно возможно полнее соприкасалось с воздухом для насыщения кислородом. Охлаждение ведется или на так называемых «тарелках», плоских резервуарах, куда сусло наливается тонким слоем, или на оросительных холодильниках, устроенных таким образом, чтобы обеспечить наилучшее соприкосновение сусла с воздухом. Этот технологический прием, как уже упоминалось, издавна считается очень неудачным с микробиологической точки зрения, так как соприкосновение сусла с нестерильным воздухом создает опасность инфицирования.

Веселов задался вопросом: можно ли размножать дрожжи при отсутствии кислорода? Он изучал размножение дрожжей при дезаэрации сусла углекислотой. Оказалось, что первые генерации в анаэробных условиях отстают от контроля, которым является сусло без продувания CO_2. Однако в 6—10 генерациях это отставание прекратилось. Дрожжи приспособились к анаэробным условиям и даже стали образовывать более активные ферменты. Пиво, полученное из дезаэрированного сусла, оказывается более высокого качества, так как в анаэробных условиях образуется меньше альдегидов и сивушных масел.

Булгаков и Антонова (1950), изучая динамику окислительно-восстановительного потенциала по ходу производства, нашли, что rH сусла колеблется в пределах 23—27. При брожении rH падает до 9—11,5, а rH в пиве 12—17. Кислород, содержащийся в сусле, в начале брожения оказывает благоприятное действие на размножение дрожжей. В конце брожения кислород оказывает вредное действие: он портит вкус и вызывает помутнение.

Веселов различает две фазы в брожении по отношению к кислородному режиму, из которых первая обуславливает вторую.

В начальный период главного брожения сусло насыщено кислородом. В это время идет интенсивное размножение дрожжей. При размножении, в процессе азотистого питания, дрожжи потребляют азот аминокислот, а их углеродные остатки остаются неиспользованными и превращаются в побочные продукты брожения — сивушные масла (высшие спирты).

Развивая взгляды Таусона, Веселов обращается к энергетике процесса образования сивушных масел. В литературе установилось мнение, что образование высших спиртов идет через стадию аминов и затем кетокислот. Расчет показывает, что образование спиртов из аминокислот через амины и кетокислоты в анаэробных условиях может итти лишь с потреблением энергии, что не реально. Веселов высказывает предположение, что сивушные масла образуются путем окислительного дезаминирования. Этот процесс протекает в первую аэробную фазу брожения и приводит к образованию альдегидов. Эти вещества обуславливают вкус молодого зеленого пива.

Затем в среде устанавливаются анаэробные условия — это вторая фаза. Среда обогащается донаторами водорода в виде продуктов расщепления углеводов по схеме спиртового брожения. Эти восстановители восстанавливают альдегиды до спиртов. Таким образом, получаются высшие спирты и другие ароматические вещества, обуславливающие вкус зрелого пива. Пиво приобретает законченный вкус и аромат.

Можно предположить, что чем интенсивнее протекает аэрация сусла перед брожением, тем больше будет накоплено продуктов аэробного обмена и тем длительнее будет фаза их анаэробного восстановления во время созревания пива.

Если сократить или исключить первую аэробную фазу, то может быть сокращена и стадия дображивания. Время, необходимое для производства пива, может быть сокращено. Сократить первую фазу можно путем исключения возможности насыщения сусла кислородом и внесением боль-

шого количества дрожжей. Обильный засев может заменить собой то размножение, которое идет в первую, аэробную фазу.

При таком ведении процесса не будет происходить образования альдегидов в таком количестве, как это имеет место в обычных условиях. Одновременно с ограничением прироста дрожжей будет ограничено и образование альдегидов. Процесс образования пива может быть сокращен и качество пива повышено.

Таким образом, глубокое изучение физиологических особенностей дрожжей создает возможности для более рациональной организации производства.

Кислородный режим сусел изучался Забродским (1946, 1952). Его исследования велись с хлебо-картофельными заторами и с синтетическими средами, но они представляют интерес и для пивоваренного производства. Он показал, что в присутствии твердой фазы, такой, как оболочки зерна, ростки солода, крахмальные зерна, коагулированный белок и многое другое, дрожжи не нуждаются в аэрации для того, чтобы брожение протекало энергично. Очевидно, дрожжи находят кислород в адсорбированном состоянии на поверхности твердых частиц. В то же время в прозрачных, хорошо отфильтрованных средах дрожжи явно нуждаются в аэрации для того, чтобы брожение прошло полнее, с бóльшим выходом спирта и меньшим недобродом. Можно думать, что кислород усиливает размножение, что и сказывается на брожении. Однако автор, к сожалению, не учитывал количества клеток. Даже ничтожное количество твердых частиц уже заметно сказывается на брожении. Материал, из которого сделана бродильная посуда, также имеет значение. В деревянной посуде, которая может адсорбировать заметное количество воздуха, брожение идет лучше, чем в стеклянной.

Другой вопрос, которому посвящены исследования Веселова,— это изучение роли углекислоты.

По его расчетам, именно углекислота обуславливает pH пива. Ее концентрация составляет 0,1 *N*, тогда как фосфаты, которым обычно приписывается роль буфера, обуславливающего pH сусла, находятся в концентрации всего лишь 0,01 *N*.

Более кислая реакция, по мнению Веселова, может обеспечить уменьшение количества альдегидов и глицерина, образующихся при брожении. В экспериментальной работе он проследил динамику образования альдегидов при разных условиях брожения.

Действительно, при брожении под давлением CO_2 (без доступа воздуха) pH ниже и альдегидов меньше, чем при брожении в открытых сосудах с доступом воздуха. Можно видеть, что образование альдегидов связано с аэробной фазой. Определение окислительно-восстановительного потенциала в пиве, бродящем под давлением CO_2, показало снижение потенциала по сравнению с брожением в обычных условиях.

При пониженном давлении — в частичном вакууме ферментативного препарата — брожение ацетоновых дрожжей значительно ускоряется.

Веселов считает возможным дать своим данным такое толкование: в механизме брожения большое значение имеют эфиры угольной кислоты. Образование промежуточных продуктов брожения идет через эфиры угольной кислоты, которые заменяют собой фосфорные эфиры.

Значительная работа проделана в СССР по выделению новых рас дрожжей для пивоварения. До 1940 г. вся промышленность использовала хорошо зарекомендовавшую себя немецкую расу 776. В 1939 г. под руководством Веселова (Машкова и Рыскина, 1951) велось выделение новых рас с 76 заводов. Было выделено и изучено 300 культур. Из них отобрано 5 с наилучшими показателями. В лабораторных условиях они оказались лучше расы 776 по ряду показателей. Далее они были проверены в производственных условиях. Особенно высокие показатели дали расы 11, 41 и 44. Раса 11 сокращает длительность главного брожения по сравне-

нию с расой 776 на 22—24% и обладает стойкостью. Она годится для всех сортов пива. Раса 41 дает хорошее осветление и хороший вкус. Рекомендуется для жигулевского пива. Раса 44 обладает теми же качествами, что и раса 41. Она оказалась особенно пригодной на производствах, где вода отличается повышенной жесткостью.

Эти расы стали все шире применяться на производстве и вытесняют расу 776. Если в 1948 г. в количестве рассылаемых чистых культур раса 776 составляла 97,4%, то в 1950 г. она составляла только 20%, а 80% падает на долю рас 11,41 и 44.

Между прочим следует отметить, что расы 11 и 41 при брожении довольно энергично разрушают аскорбиновую кислоту (Веселов и Сахарова, 1945). Это следует учитывать при подборе расы дрожжей для получения витаминосодержащих напитков.

Интересной попыткой является применение метода непрерывного брожения в пивоварении как более экономичного. Впервые этим вопросом занялся Маркин в Воронеже (см. Малин, 1940). Он ставил лабораторные опыты по схеме Лебедева и получил обнадеживающие результаты. Аналогичные опыты ставил Орлинский (1940). Он работал с лабораторной батареей, состоящей из сосудов емкостью в 6 л. Орлинский также пришел к заключению, что непрерывное сбраживание пивного сусла осуществимо. Малин (1940), основываясь на наблюдениях Маркина, ставил опыты уже в полупроизводственном масштабе, в сосудах емкостью 100—200 л. Дегустация и анализ продукта свидетельствовали о хороших результатах. При соблюдении правильного температурного режима дрожжи не испытывают угнетения, о чем свидетельствуют специальные наблюдения Палей и Чубрашкиной (1940).

Вопросы болезней пива мало затронуты исследованиями. Можно упомянуть лишь сводку иностранной литературы Палей (1939), посвященную наиболее опасному вредителю пивоваренного производства — пивной сарцине. Пивные сарцины — педиококки — встречаются в виде нескольких разновидностей. Они принадлежат к группе молочнокислых бактерий и могут быть выращены в чистом виде лишь с большим трудом. Шамис и Болдырева (1949) предложили для борьбы с педиококками пенициллин. Однако ими проведены опыты только в лабораторных условиях.

Оставшиеся после брожения пивные дрожжи могут быть заражены посторонними бактериями. Известно (Лившиц и Глуховцев, 1935, и Веселов и Клейменова, 1939), что Bact. coli хорошо переносит пребывание в слабоалкогольных напитках. Вышеупомянутыми авторами предложен способ очистки дрожжей. Он заключается в их обработке 0,4% H_2SO_4 (pH = 1,1—1,2) в течение 4 часов. В этих условиях Bact. coli погибает. Интересно, что в кислоте хлопьевидные дрожжи переходят в пылевидные. При подщелочении до pH = 4,8—5,3 они опять переходят в хлопьевидное состояние.

Очищенные дрожжи могут неоднократно возвращаться в производство для сбраживания сусла.

Остаточные пивные дрожжи применяются как лечебный препарат. Они богаты витаминами, особенно витамином B_1 (Палей, 1937). Так как они бывают загрязнены смолами, белками и пр., их необходимо отмывать. Булгаков (1940) рекомендует промывку 0,1% NaOH или 0,5%-ной содой.

Фениксовой и Литвиновой (1945) предложен способ утилизации пивной дробины и квасной гущи для получения дрожжей. Для этого дробина подвергается осахариванию грибным солодом (смесь Asp. niger и Asp. oryzae) подобно тому, как это делается уже в спиртовой промышленности.

Хотя в пивоварении вопросы микробиологии встали очень давно, применение чистых культур практикуется уже около 70 лет и технологически

производство весьма совершенно, работы последних лет показывают, что исследования глубокой сущности производственных процессов могут еще более усовершенствовать производство.

Московский государственный
университет им. М. В. Ломоносова
Биолого-почвенный научно-
исследовательский институт

Получено 19. IV. 1953 г.

ЛИТЕРАТУРА

Булгаков Н. И. Промывка остаточных пивных дрожжей для пищевых и технических целей. Изв. ВНИЛП, 1940.
Булгаков Н. И., Антонова Л. И. Значение о.-в потенциала в пивоварении и методы его определения. Труды Всес. н.-и. ин-та пивов. пром-сти, 58, 1950.
Веселов И. Я., Асланова А. Е. Роль углекислоты в процессе брожения пива. Труды Всес. н.-и. ин-та пивов. пром-сти, II, 13, 1952.
Веселов И. Я., Клейменова А. А. Обработка дрожжей низового брожения серной кислотой, как метод очистки от Bact. coli. Микробиология, VIII, 1, 19, 1939.
Веселов И. Я., Сахарова Т. Скорость разрушения аскорбиновой кислоты в зависимости от брожения. Труды ВНИЛП, 52, 1945.
Веселов И. Я. и Штиль В. Н. Размножение дрожжей низового брожения (раса 776) и скорость сбраживания сусла, не содержащего кислорода. Труды Всес. н.-и. ин-та пивовар. пром-сти, II, 130, 1952.
Забродский А. Г. Влияние сорбированного твердой фазой кислорода воздуха на сбраживание сусла. Микробиология, XX, 5, 443, 1946.
Забродский А. Г. и Мовчан А. А. О влиянии адсорбентов на спиртовое брожение. Биохимия, 17, 5, 513, 1952.
Куликов П., Разумов Н., Гивартовский Р., Бобрик И. Технология брожения, 1932.
Лившиц М. И., Глуховцев Б. В. Обследование пивоваренного производства на Bact. coli для выявления способов устранения его из пива. Труды Н.-и. ин-та пищ. пром-сти, III, вып. 3, 1935.
Малин Н. В. Технология и химия непрерывного брожения в пивоварении. Изв. ВНИЛП, 1940.
Мальцев П. М. Технология и оборудование пивоваренного производства, 1948.
Машкова А. С., Рыскина Э. Е. Новые расы пивоваренных дрожжей низового брожения. Бюлл. техн. информации, № 4, 1951.
Орлинский И. С. Непрерывное сбраживание пивного сусла. Консультации по брод. пром-сти, вып. 18—19, 1940.
Палей П. Л., Пивная сарцина. Изв. ВНИЛП, № 5—6, 14, 1939.
Палей Т. Я. Содержание витамина В в пивных дрожжах. Микробиология, VI, вып. 5, 1937.
Палей Т. Я., Чубрашкина М. А. Морфологические и физиологические видоизменения дрожжей, наблюдаемые в опытах по непрерывному сбраживанию пивного сусла. Изв. ВНИЛП, 1940.
Рубинштейн Ю. М. Микробиология пивоваренного производства, 1939.
Рубинштейн Ю. М. Микробиологический контроль в пивоваренной и безалкогольной промышленности, 1940.
Симонов Л. Н. Пивоварение, квасоварение, медоварение. СПб., 1898.
Тавилдаров Н. Химическая технология сельскохозяйственных продуктов. СПб., 1889.
Фениксова Р. В. и Литвинова Е. В. Осахаривание пивной дробины и квасной гущи плесневыми грибами с целью размножения дрожжей. Труды ВНИЛП, 59, 1945.
Шамис Д. Л. и Болдырева К. В. Влияние пенициллина на пивную сарцину. Изв. АН Каз. ССР, № 1, 1949.

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

В. Лилли и Г. Барнетт. **Физиология грибов.** Издательство иностранной литературы, М., 1953.

За последние 30—40 лет возник ряд новых биохимических производств, основанных на применении грибов. Если раньше в практике употреблялись почти исключительно дрожжи, то в настоящее время большое значение приобрели многие другие грибы, относящиеся главным образом к роду Aspergillus и Penicillium. Создание мощной пенициллиновой промышленности, получение лимонной кислоты, ферментных препаратов амилазы, пектиназы, протеазы и танназы из культур Aspergillus, образование ряда органических кислот (фумаровая, глюконовая) грибами — вот далеко не полный перечень производств, в которых нашли применение грибы. Все это делает понятным, почему на страницах журналов так часто стали публиковаться работы по физиологии и биохимии грибов.

Появление рецензируемой книги, так же как и ранее вышедшей книги Фостера «Химическая деятельность грибов», говорит о большой актуальности данных разделов физиологии низших растений.

Книга Лилли и Барнетта состоит из 18 глав и приложения, в котором дано описание рекомендуемых практических работ. Общий объем книги 531 страница. Остановимся на краткой характеристике каждой главы книги.

В небольшом предисловии к русскому изданию Л. И. Курсанов подчеркивает важность изучения обмена веществ у грибов и считает, что в будущем микология должна включать в себя и физиологический раздел учения о грибах. Введение, принадлежащее авторам, посвящено обоснованию интереса, который представляют грибы для фитопатолога, бактериолога и миколога, а также ознакомлению читателя с теми задачами, которые хотели разрешить авторы, приступая к составлению данной монографии.

Во второй главе дается описание состава, способов приготовления и стерилизации органических, полусинтетических и синтетических питательных сред. Эта глава написана с большим знанием дела, и содержащиеся в ней теоретические обоснования, которыми следует руководствоваться при составлении сред, очень ценны.

Глава третья посвящена росту грибов. Вначале дается сравнительная оценка различных методов определения скорости роста (визуальный, весовой, турбидометрический, центрифугирование, подсчет клеток и др.), а также описание способов изображения полученных результатов. Далее анализируется влияние факторов внутренней и внешней среды на рост и развитие грибов. Эта глава читается с интересом, но авторы недостаточно четко дифференцируют рост и развитие грибов, о чем приходится пожалеть, так как литература по этому вопросу довольно обширная.

В четвертой главе приводится классификация ферментов, краткая характеристика гидролаз, карбогидраз, протеиназ и оксидаз, образуемых грибами, данные о химической природе ферментов и влиянии внешних условий на активность грибных ферментов.

Несомненный интерес представляет пятая глава, в которой обобщен материал о необходимых для грибов металлических элементах. В ней анализируется роль отдельных элементов (калия, магния и ряда микроэлементов: железа, цинка, меди, марганца, молибдена, кальция, галлия, скандия, ванадия, кобальта) и приводятся ценные указания, как приготовлять среды для исследований с микроэлементами, как освобождать от микроэлементов компоненты среды, и другие советы методического характера.

Заглавие шестой главы — «Необходимые неметаллические элементы за исключением углерода». В ней авторы разбирают вопрос об усвоении грибами водорода, кислорода, серы, фосфора и азота. После рассмотрения роли фосфора и серы в обмене приводится классификация грибов, основанная на их отношении к различным источникам азота. Устанавливаются четыре группы: усваивающие атмосферный, нитратный, аммонийный и только органический азот. Естественно, что представители первых трех групп могут усваивать и другие формы азота. Эта глава насыщена данными о влиянии азотистого питания на скорость роста, об усвоении грибами отдельных аминокислот и их комплексов, о синтезе белка грибами и т. д.

Глава седьмая содержит сведения об отношении грибов к различным источникам углерода. В ней приводятся данные о весе мицелия самых различных грибов, выросших на ряде углеводов, затем рассматривается усвоение органических кислот и глюкозидов. В этой же главе рассмотрены вопросы о коэффициенте использования углево-

дов, о промежуточном обмене веществ, включая превращения пировиноградной кислоты и цикл Кребса.

В восьмой главе излагаются сведения о концентрации водородных ионов. Даются методы приготовления буферных растворов, определения pH, анализируется влияние pH на развитие различных грибов и изменение pH среды в процессе роста культуры. Интересны данные о влиянии pH на усвоение питательных веществ, диффузию кислорода и т. п.

«Витамины и факторы роста» — название девятой главы.

Вначале приводятся данные о синтезе факторов роста грибами, далее даются методы определения потребности грибов в витаминах, затем приводятся сведения о физиологическом действии витаминов и о грибах, нуждающихся в тиамине, биотине, инозите, никотиновой кислоте, пантотеновой кислоте, пиридоксине, парааминобензойной кислоте и рибофлавине. Эта глава одна из наиболее удачных в книге.

Глава десятая содержит сведения об использовании грибов для аналитических целей. Дается описание методов количественного определения различных витаминов, некоторых аминокислот, меди, магния, калия и некоторых сахаров при помощи культур грибов. Учение об антиметаболитах, получившее распространение в последние годы, нашло себе отражение в том, что авторы посвятили одиннадцатую главу антагонистам метаболитов, в которой рассматривают действие некоторых антивитаминов, а также антагонистов аминокислот на грибы.

Глава двенадцатая «Действие фунгицидов» очень интересна в практическом отношении, так как в ней излагаются данные о влиянии на грибы фунгицидов, содержащих медь, ртуть или серу, а также органических фунгицидов.

В тринадцатой главе, озаглавленной «Продукты обмена веществ», рассматривается пищевое значение грибов, получение при их помощи жира, витаминов, ферментов, спирта; различных органических веществ, ряда антибиотиков и токсинов. Эта глава слишком краткая, если мы учтем практическое значение грибов как продуцентов разнообразных ценных продуктов.

В четырнадцатой главе разобраны факторы, влияющие на спорообразование грибов. Сообщаются сведения о влиянии температуры, света, аэрации, концентрации водородных ионов, концентрации питательных веществ в среде, источников азота, углерода и влиянии продуктов жизнедеятельности других видов грибов.

Данные о разбрасывании и распространении спор, в том числе аскоспор, перидиолей и эцидиоспор, составляют содержание шестнадцатой главы. В ней приведены весьма интересные сведения о механизме разбрасывания спорангиев у Pilobolus, основанного на переносе фотохимического стимула к особому моторному району, находящемуся ниже предспорангиального пузыря. В главе шестнадцатой подробно анализируется процесс прорастания спор, влияние на него температуры, влажности, кислорода, состава питательной среды и стимуляторов.

Непосредственное отношение к фитопатологии имеет глава семнадцатая, названная «Физиология паразитизма и устойчивости». В ней сообщаются данные о проникновении через устьица и о прямом внедрении грибов паразитов, о физиологических основах паразитизма, а также анализируются причины устойчивости высших растений к фитопатогенным грибам.

Очень краткая восемнадцатая глава «Физиологическая изменчивость» содержит описание различного отношения у культур одного и того же вида к пищевым потребностям и условиям внешней среды. Приводятся также примеры изменчивости обмена веществ, спорообразования и патогенности у грибов.

В общем в книге содержится много свежего фактического материала, хорошо систематизированного и ясно изложенного. Некоторые сообщаемые сведения и описанные методические приемы не могут не привлечь внимания. Любопытна сверхскоростная съемка падения капли воды на плодовое тело Lycoperdon, приводящего к распылению спор,— общая продолжительность измерений 0,046 сек. Очень ценны хорошо подобранные сведения о значении витаминов и микроэлементов в питании грибов. Авторы в начале книги подчеркивают, что изучение физиологии грибов возможно только путем систематических определений или анализов, проводимых на протяжении всего периода развития культуры, и следует приветствовать, что этот принцип выдержан во всех главах книги. Всюду дается динамика изменений, происходящих в культуре.

Нельзя не отметить двух больших достоинств книги. В конце каждой главы даются выводы, в которых с исключительной простотой и ясностью изложены основные сведения, содержащиеся в этой главе. Дать так кратко все наиболее существенное — это большое искусство. Второе достоинство книги заключается в том, что в конце главы приводится список наиболее важной литературы, что, несомненно, имеет значительные преимущества перед общим списком литературы, помещаемым в конце книги.

Вопреки традиции мы предпошлем критическому анализу содержания глав перечень отдельных неточностей или ошибок, а также остановимся на качестве перевода и оформления книги. Прежде всего обращает на себя внимание неточный перевод фамилий иностранных авторов на русский язык. На протяжении ряда лет микробиологи привыкают к определенному произношению фамилии иностранного автора, такая фонетика становится обычной, и читатель бывает крайне удивлен, наталкиваясь на незнакомые фамилии там, где он ожидает увидеть привычную транскрипцию. Приведу только несколько примеров. Французский исследователь Дюфренуа (Dufrenoy) фигу-

рирует как Дюфреной (стр. 467), немецкий ученый Лафар (Lafar), известный как издатель крупного справочника, стал почему-то La Far (стр. 146, 149), немецкий микробиолог Риппель (Rippel) превратился в Рапел (стр. 136), немецкий исследователь Цикес (Zikes) стал Цайкс (стр. 47, 49, 55) и т. д. Такие трансформации, как мы видим, объясняются некоторой «англоманией» корректоров и технических редакторов Издательства иностранной литературы. Научные редакторы обычно в этом не бывают повинны, так как даже после исправления транскрипции фамилий издательство вновь ее изменяет. Следует пожелать, что бы Издательство иностранной литературы перестало коверкать фамилии.

В общем книга переведена хорошо, вполне литературным и легким языком. Однако в тексте имеется ряд ошибок и противоречий, которые следовало оговорить либо исправить или сделать соответствующие примечания. Так, на стр. 22 авторы пишут: «Грибы, способные усваивать минеральный азот, встречаются реже». Это противоречит данным, приведенным в главе об азотистом питании грибов, в которой указывается очень большое число видов, способных усваивать аминный и нитратный азот. Известно, что подавляющее большинство сумчатых и несовершенных грибов в присутствии витаминов усваивает минеральный азот.

Нельзя согласиться с авторами, рекомендующими на стр. 43 определение сухого веса гриба, выросшего на агаризованной среде путем автоклавирования культуры и фильтрации ее в горячем состоянии. Обработка при высокой температуре может отразиться на весе биомассы и, помимо этого, при фильтрации конидии некоторых грибов могут пройти через фильтр. Гораздо лучше снимать гигантские колонии с поверхности расплавленного агара и их взвешивать.

На стр. 177 авторы сообщают: «Лишь немногие виды дрожжей используют крахмал». К сожалению, таких дрожжей нет, так как если бы они были, то отпала бы необходимость в осахаривании крахмала заторов солодом или амилазой грибов. Повидимому, здесь идет речь о несовершенных грибах (Torulopsis, Monilia и т. д.).

На стр. 193 авторы пишут: «На слишком кислых или слишком щелочных средах грибы развиваются плохо или совсем не растут». Такой ригоризм едва ли оправдан. Известны грибы, растущие при pH ниже единицы и развивающиеся при pH выше 11. Сами авторы как бы забывают об этом утверждении, так как ниже на стр. 206 указывают максимальный pH для Penicillium variabile = 11,1, а для Acontium velatum минимальный pH = 0,5. Здесь, как и в ряде других мест книги, игнорируются данные экологии.

Вывод, приведенный на стр. 47, вызывает возражения. Авторы пишут: «У нас нет никаких оснований предполагать, что варианты, полученные в лаборатории, принципиально отличны от вариантов, встречающихся в природе». Такое утверждение противоречит фактам. Разве варианты, полученные при помощи лучистой энергии или ядов, не относятся к той категории вариантов, которые большей частью не встречаются в природе? Активные культуры Penicillium, полученные в условиях лаборатории в результате действия рентгеновских или ультрафиолетовых лучей, до сих пор ни разу не были выделены из таких естественных сред, как вода, почва, пищевые продукты и т. п.

Следовательно, в лаборатории могут быть получены самые различные варианты, принципиально отличающиеся от вариантов, возникающих в природе.

Между данными, приводимыми в тексте и изображенными на кривых, иногда существуют расхождения. Так на стр. 231 указывается, что гриб Blastodcladium pringsheimii «почти не может развиваться на средах без никотиновой кислоты». Однако на рис. 37 приведены кривые, говорящие о том, что этот гриб накапливает в присутствии только одного биотина или тиамина такой же вес мицелия (около 30 мг), как и на среде с никотинамидом.

На стр. 11 имеется утверждение, что по физиологическим признакам грибы нельзя систематизировать. Это не может быть распространено на все систематические группы, так как систематика отдельных видов дрожжей полностью основана на физиологических признаках.

На стр. 384 приводятся интересные данные о влиянии света на спорообразование у грибов, но при этом полностью игнорируются работы о влиянии света на ряд грибов, образующих пигменты, представляющие большой интерес в связи с возникновением и «эволюцией» фотосинтеза.

На стр. 181 имеется следующая фраза: «В промышленности стараются создать такие условия культивирования, при которых возможно большее количество углерода идет на образование нужного промежуточного продукта обмена и возможно меньшее количество расходуется на синтез мицелия и образование углекислоты». Едва ли с такой формулировкой согласятся представители дрожжевой и гидролизной промышленности, выращивающие пекарские и кормовые дрожжи, а также представители тех отраслей микробиологической промышленности, где в качестве конечного продукта получают мицелий гриба, содержащий ферменты (препараты амилазы, протеазы, пектиназы).

Отдельного замечания заслуживает проведенный в конце книги практикум. Характер рекомендуемых в нем практических работ соответствует элементарному микологическому практикуму. Он может быть рассматриваем как пособие для первых примитивных работ, так как трудно представить себе практикум по физиологии грибов без определения интенсивности дыхания и брожения, вызываемого грибами, анализа спиртов,

органических кислот, витаминов и антибиотиков, синтезируемых грибами. В практикуме должны быть занятия по определению активности хотя бы некоторых грибных ферментов. Теоретическая часть книги написана на более высоком уровне, чем та часть, которая посвящена практикуму.

Перейдем к рассмотрению наиболее существенных недочетов книги.

1. По замыслу книга, написанная авторами, предназначается для научных работников, аспирантов, но во всяком случае не для учащихся. С этой точки зрения совершенно непонятно, почему авторы уделяют слишком много внимания объяснению элементарных представлений и детальному изложению материала, который соответствует больше обычным учебникам, чем книге данного рода. Едва ли стоило давать краткие сведения о ферментах вообще, которые гораздо более детально изложены в любом учебнике биохимии.

На стр. 118—119 приводятся краткие определения дыхания, брожения, понятие о дыхательном коэффициенте — все сведения, хорошо известные студентам. На стр. 153 дается классификация углеводов. Такой экскурс в область органической химии едва ли оправдан, так как объем книги возрастает за счет разделов, не имеющих прямого отношения к ее теме. Включение «общих» разделов не могло не отразиться на самом существенном — полноте изложения специальных разделов, имеющих непосредственное отношение к физиологии грибов. Так, очень сжато изложены сведения о ферментных системах грибов.

На стр. 193—205 много места уделяется определению термина pH, приготовлению буферных растворов, методам определения pH в среде и т. д. Едва ли целесообразно в руководстве для специалистов останавливаться на столь элементарных сведениях методического характера. Это с успехом можно прочесть в любом практикуме, тогда как некоторые теоретические разделы, действительно составляющие основу физиологии грибов, написаны чересчур компактно или отсутствуют совершенно.

2. Содержание книги носит очень субъективный характер. При выборе глав авторы исходили из личных научных интересов и собственного опыта. Это иногда бывает залогом удачи. Однако в данном случае в книге утрачено гармоническое сочетание ее отдельных частей. Авторы наметили чрезмерно широкий план книги, включив в нее некоторые главы, которые до сих пор и с большим основанием входили в руководства по другим специальностям. Так, главы о паразитизме и устойчивости с бо́льшим успехом могли бы фигурировать в монографиях по фитопатологии. В данной книге они носят слишком поверхностный характер, так как объем книги не позволил эти главы увеличить. Чересчур детально описано образование, разбрасывание и прорастание спор — этому посвящены три главы, тогда как значительная часть приведенного материала могла бы с успехом фигурировать (и обычно приводится) в руководствах по микологии. Включив большое число глав, посвященных самым различным вопросам, авторы в то же время дали лишь небольшую главу по обмену веществ грибов, т. е. не выполнили своего основного обязательства. Глава «Продукты обмена веществ» занимает только 33 страницы, т. е. ровно столько, сколько занимает глава о влиянии различных факторов на спорообразование у грибов. Огромный фактический материал, накопленный за последние 30 лет о химизме образования органических кислот грибами, о путях биосинтеза антибиотиков, о синтезе грибами ядовитых веществ,— все это и многое другое совсем не освещено либо изложено очень кратко. Естественно, что физиология грибов может быть только биохимической, между тем химизму различных процессов авторы вообще уделяют очень мало внимания.

В книге отсутствует гармония между числом страниц, затрачиваемых на описание методических приемов, и изложением теоретических сведений. В главе 10 подробно говорится о методах приготовления сред, подготовки культуры и т. п. в связи с применением культур грибов для аналитических целей. В других главах такое методическое введение отсутствует полностью, что лишний раз говорит об известной субъективности авторов, проявленной ими в «конструкции» как книги, так и ее отдельных глав.

3. В конце книги имеется небольшая, занимающая всего 5 страниц глава «Физиологическая изменчивость». Вместе с усилением изучения метаболизма грибов значительно возрос интерес и к изменчивости различных функций у грибов. Стало очевидным, что наследственные особенности грибов играют не меньшую роль в интенсификации биохимических процессов, вызываемых грибами, чем создание оптимальных условий для их жизнедеятельности. Если разработка научных основ селекции гриба немыслима без знания их метаболизма, то в одинаковой мере бесцельно применение мало активных рас грибов. Это две стороны одной и той же деятельности исследователя, ставящего перед собой задачу повысить выходы тех или иных продуктов жизнедеятельности грибов. Достаточно указать, что современная пенициллиновая промышленность применяет культуры пенициллов, полученных при помощи лучистой энергии и в 70 раз более активных, чем исходные формы этого гриба. К сожалению, авторы не использовали большего экспериментального материала, накопившегося в литературе по физиологической изменчивости грибов. Большое число работ по изменчивости дрожжей, аспергиллов, пенициллов, нейроспоры и ряда других грибов в одинаковой мере имеет отношение как к генетике микробов, так и к их физиологии. Авторы почти не затрагивают проблемы наследственного изменения физиологических свойств грибов и селекции грибов, ставящей перед собой задачу усилить определенную функцию гриба

или сделать его устойчивым к тому или иному внешнему фактору. Фактическое отсутствие такой главы — большой недостаток книги.

4. Серьезный упрек может быть сделан авторам книги за необъективный подбор литературных источников. В основном авторы использовали только литературу на английском языке. Прекрасные исследования по физиологии грибов С. П. Костычева, В. С. Буткевича, Н. И. Иванова, В. О. Таусона и ряда других русских и советских исследователей не фигурируют в книге. Трудно объяснить также отсутствие в главе, посвященной образованию органических кислот грибами, ссылок на известную монографию Бернгауера, которой нет и в списке литературы, а также игнорирование ряда других общеизвестных исследований.

5. Рецензируемая книга не носит характера «литературно обработанной» картотеки, т. е. не походит на иностранные справочники и руководства, которые представляют собой перечень фактов, установленных различными исследователями, и разнообразных сведений, излагаемых с эпическим спокойствием без критических замечаний, сопоставлений и обобщений. Однако авторы не дали углубленного анализа приводимого ими материала. Сообщая сведения о физиологии грибов, авторы почти игнорируют их естественную среду обитания. Поэтому экологической физиологии в книге нет, так же как почти нет указаний на приспособительный характер физиологических изменений, наблюдаемых у грибов, живущих при различных условиях внешней среды.

Как всегда, количество незамеченных опечаток больше, чем замеченных. Перечислим только некоторые из них.

Стр. 350 «ногатин» — надо «нотатин»; стр. 14 «Schoffer» вместо «Schöpfer»; стр. 408 «фактов» — надо «факторов»; стр. 464 «вильт» — следует «вилт»; стр. 440 «Coletorichum» вместо «Colletotrichum» и т. д. К дефектам следует также отнести отсутствие отдельных букв в ряде слов (стр. 96, 488 и др.).

В книге встречаются единичные неудачные термины. На стр. 461 напечатано «агарные среды» — термин неприемлемый; на стр. 175 «коричневая гниль» вместо «бурая гниль»; стр. 27 «корпия» из ватных пробок. Стр. 489 «агаровые косячки» вместо «агаровая среда, скошенная в пробирках», и т. д.

Иллюстрации и графики, приведенные в книге, выполнены хорошо. В единичных случаях, изучив рисунок, читатель все же остается в недоумении. Так, на рис. 6а (стр. 56) изображена культура дрожжей, обработанная пенициллином, а на рис. 6в дрожжи, обработанные пенициллином и цистеином. Однако сопоставлять изображения не с чем, так как опытов с дрожжами, не подвергавшимися обработке, на рисунке вообще нет.

Следует отметить также промахи техредактора. В предисловии к книге авторы говорят о том, что наиболее важные работы отмечены звездочкой. По недосмотру в русском переводе такие интересные работы не были отмечены, как это было обещано в предисловии. Почти отсутствуют в тексте примечания, а в ряде случаев их стоило бы сделать.

Отсутствие детальных биохимических глав в «Физиологии грибов» серьезный недостаток, но и в таком виде книга будет очень полезной для многих. Ее с интересом прочтут биохимик и технолог, миколог и физиолог растений, микробиолог и фитопатолог. Грибы стали привлекать всеобщее внимание, и пока представители различных специальностей не избалованы обилием руководств по обмену веществ у грибов. Поэтому выход в свет этой книги можно только приветствовать.

А. А. Имшенецкий

БИБЛИОГРАФИЯ ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

(1952—1953 гг.)

(Продолжение, см. т. XXIII, вып. 3, 1954)

б. Биохимия и физиология

Abelson P. H., Bolton E., Britten R., Cowie D. B. and Roberts R. B. Synthesis of the aspartic and glutamic families of amino acids in Escherichia coli. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 1953, vol. 39, No. 10, p. 1020—1026.

Abrams R. Incorporation of glycine-1-C^{14} and adenine-8-C^{13} in the purines of a purine-requiring yeast. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 37, No. 2, p. 270—275.

Adelberg E. A. and Umbarger H. E. Isoleucine and valine metabolism in Escherichia coli. V. α-Ketoisovaleric acid accumulation. J. Biol. Chem., 1953, vol. 205, No. 1, p. 475—482.

Ahmad M. Biochemical investigations in Saccharomyces. Bull. Torrey Bot. Club, 1953, vol. 80, No. 3, p. 197—204.

Ajl S. J. Factors affecting oxidation of acetate by Bacterium coli. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 3—4, p. 221—232.

Akamatsu Sh. and Miyashita R. Bacterial decomposition of creatine. III. The pathway of creatine decomposition. Enzymologia, 1952, vol. 15, fasc. 4, p. 173—176.

Aldous J. G. The nature of the cytotoxic action of undissociated iodoacetic acid in yeast cells. Canadian J. Med. Sci., 1952, vol. 30, No. 1, p. 68—78.

Alkiewicz J., Graczykówna Z. O działaniu hamującym paleczki ropy błękitnej na rozwój kropidlaka (Aspergillus fumigatus). Medycyna doświadczalna i mikrobiologia, 1952, Rok 4, No. 2, p. 257—262.

Anderson A. W. and Elliker P. R. The nutritional requirements of lactic streptococci isolated from starter cultures. I. Growth in a synthetic medium. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 2, p. 161—167.

Anderson A. W. and Elliker P. R. The nutritional requirements of lactic streptococci isolated from starter cultures. II. A stimulatory factor required for rapid growth of some strains in reconstituted nonfat milk solids. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 6, p. 608—613.

Anderson J. M. Effects of ultrasonic radiation on growth and fermentation in the yeast, Saccharomyces cerevisiae. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 1, p. 122—137.

Anderson L., Tomita K., Kussi P. and Kirkwood S. On the cyclitol oxidizing enzyme system of Acetobacter suboxydans. J. Biol. Chem., 1953, vol. 204, No. 2, p. 769—780.

Anderson P. A. Automatic recording of the growth rates of continuously cultured microorganisms. J. gen. Physiol., 1953, vol. 36, No. 6, p. 733—737.

Andreasen A. A. and Stier T. J. B. Anaerobic nutrition of Saccharomyces cerevisiae. I. Ergosterol requirement for growth in a defined medium. J. Cell. Comp. Physiol., 1953, vol. 41, No. 1, p. 23—36.

Aoyama S. Studies on the thiamin decomposing bacterium. II. The characteristics of thaminase of Bacillus aneurinolyticus Kimura et Ooyama. Acta Scholae Med. Univ. Kioto, 1953, vol. 30, No. 3, p. 239—244.

Arnaki M. und Stary Z. Untersuchungen über die Biosynthese der Carotinoide. Biochem. Ztschr., 1952, Bd. 323, H. 5, S. 376—381.

Arnstein H. R. V. and Bently R. The biosynthesis of kojic acid. 1. Production from (1-^{14}C) and (3 : 4-$^{14}C_2$) glucose and (2-^{14}C)-1 : 3-dihydroxy-acetone. Biochem J., 1953, vol. 54, No. 3, p. 493—507.

Arnstein H. R. V. and Betley R. The biosynthesis of kojic acid. 2. The occurrence of aldolase and triosephosphate isomerase in Aspergillus species and their relationship to kojic acid biosynthesis. Biochem. J., 1953, vol. 54, No. 3, p. 508—516.

Arnstein H. R. V. and Bentley R. The biosynthesis of kojic acid. 3. The incorporation of labelled small molecules into kojic acid. Biochem. J., 1953, vol. 54, No. 3, p. 517—522.

Asnis R. E. and Brodie A. F. A glycerol dehydrogenase from Escherichia coli. J. Biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 1, p. 153—160.

Atkinson D. E. Factors in the biosynthesis of tryptophan and tyrosine by Lactobacillus arabinosus. Iowa State Coll. J. Sci., 1951, vol. 25, No. 2, p. 134—135.

Aubel E., Lubochinsky B. et Prouvost A. Au sujet de la réduction des nitrates en nitrites par E. coli. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 236, No. 1, p. 145—148.
Aubert J.-P., Milhaud G. et Gavard R. Etude préliminaire d'un système enzymatique bactérien oxydant le glucose en acid gluconique. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 235, No. 19, p. 1165—1167.
Ayengar P. and Roberts E. Utilization of D-glutamic acid by Lactobacillus arabinosus: glutamic racemase. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 1, p. 453—460.
Babad J., Pinsky A., Turner-Graff R. and Sharon N. An antifungal polypeptide produced by Bacillus subtilis. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4328, p. 618—619.
Back K. J. C. and Mitchell R. The effect of glucose in the growth medium on the succinic acid oxydizing system of Escherichia coli. Austr. J. Sci. Res., Ser. B., 1952, vol. 5, No. 2, p. 256—263.
Back K. J. C. and Woods D. D. Studies with a strain of Bacterium coli requiring citrulline and a pyrimidine for growth. Biochem. J., vol. 55, No. 1, p. XII—XIII.
Bahner C. T., Rutter H. A. and Totter J. R. 5-Thiol-7-amino-1-H-v-triazolo (d) pyrimidine, an inhibitor of bacterial growth. J. Tennessee Acad. Sci., 1952, vol. 27, No. 3, p. 179—182.
Bajaj V. and Krishnan P. S. A note on phosphate partition in trichloroacetic acid extracts of mold tissue. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 47, No. 1, p. 34—38.
Baker H., Sobotka H. and Hutner S. H. Growth requirements of some thermophilic and mesophilic bacilli. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 3, p. 485—493.
Baker R. J. Oxidation of fatty acids by Candida lipolytica and Pseudomonas fragi. Iowa State Coll. J. Sci., 1951, vol. 25, No. 2, p. 139—141.
Baldo S. Action de diverses substances antibiotiques sur la croissance et la chromogenèse de B. roseus fluorescens de type Ra. Trav. du Labo. de Microb. de la Pharm. de Nancy, 1953, fasc. 17, p. 75—83.
Balis M. E., Levin D. H., Brown G. B., Elion G. B., Vanderwerff H. and Hitchings G. H. The incorporation of exogenous purines into pentose nucleic acid by Lactobacillus casei. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 2, p. 729—748.
Balis M. E., Levin D. H., Brown G., Elion G., Vanderwerff H. and Hitchings G. H. The utilization of purine ribotides by Lactobacillus casei. J. Biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 1, p. 1—6.
Balis M. E., Levin D. H. and Brown G. B. Utilisation of some purine riboside derivatives by Lactobacillus casei. J. Biol. Chem., 1952, vol. 199, No. 1, p. 227—234.
Barban S. and Ajl S. Triphosphopyridine nucleotide linked isocitric dehydrogenase in bacteria. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 443—453.
Barban S. and Ajl S. Interconversion of isocitrate and alpha-ketoglutarate by Escherichia freundii. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 1, p. 68—71.
Barker S. A. and Bourne E. J. The oligosaccharides synthesised from maltose by Escherichia coli. J. Chem. Soc. (Lond.), 1952. No. 1, p. 209—215.
Barkulis I. L. Inhibition of the anaerobic pyruvate metabolism of Escherichia coli by dihydrostreptomycin. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 337—343.
Barkulis S. S. and Gest H. The role of C_2-derivatives in the decomposition of formate. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 2, p. 306—307.
Barner H. D. and O'Kane D. J. Acetaldehyde oxidation in the absence of pyruvate oxidation factor. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 3, p. 381—386.
Baron L. S., Spiegelman S. and Quastler H. Enzyme formation in nonviable cells. J. gen. Physiol., 1953, vol. 36, No. 5, p. 631—642.
Barrett J. T. and Kallio R. E. Terminal respiration in Pseudomonas fluorescens: component enzymes of the tricarboxyhc acid cycle. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 517—525.
Barrett J. T., Larson A. D. and Kallio R. E. The nature of the adaptive lag of Pseudomonas fluorescens toward citrate. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 187—192.
Barron E. S. G. and Ghiretti F. The pathways of acetate oxidation. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 12, No. 1/2, p. 239—249.
Barron E. S. G. and Levine S. Oxidation of alcohols by yeast alcohol dehydrogenase and by the living cell. The thiol groups of the enzyme. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 41, No. 1, p. 175—187.
Barry C., Gavard R., Milhaud G. et Aubert J.-P. Sur le glycogène de Bacillus megatherium. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 235, No. 18, p. 1062—1064.
Barry C., Gavard R., Milhaud G. et Aubert J.-P. Etude du glycogéne extrait de Bacillus megatherium. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 3, p. 605—613.
Bartholomew W. V. and Norman A. G. Microbial thermogenesis in the decomposition of plant materials. IV. Influence of moisture content and of initial temperature. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 228—233.
Barton R. R. The production and action of a tartrate-decomposing enzyme. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 4, p. 533—547.
Bautz E. und Marquardt H. Das Verhalten oxydierender Fermente in den Grana mit Mitochondrienfunktion der Hefezellen. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 20, S. 531.
Bealing F. J. Mould «glucosaccharase»: a fructosidase. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 1, p. 93—100.

Bealing F. J. and Bacon J. S. D. The action of mould enzymes on sucrose. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 2, p. 277—285.
Beinert H., von Korff R. W., and Green D. E., Buyske D. A., Handschumacher R. E., Higgins H. and Strong F. M. A method for the purification of coenzyme A from yeast. J. Biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 1, p. 385—400.
Bělik F. Morfologické změny kmene Lactobacillus leichmanii 313 vyvolané působením některych růstových faktorů. Ceskoslovenska biologie, 1953, Roč. 2, čis. 4, p. 230—231.
Beljanski M. Etude des acides nucléiques de souches bactériennes résistantes à la streptomycine et de souches de mêmes espèces mais sensibles à l'antibiotique. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 4, p. 463—469.
Benigno P. e. Berti T. Densità di popolazione batterica e sviluppo dell' «E. coli». Atti della Accademia Nazionale dei Lincei, 1953, vol. 14, fasc. 5, p. 687—690.
Benzer S. Induced synthesis of enzymes in bacteria analyzed at the cellular level. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 3, p. 383—395.
Berducou J. Le rôle de l'acide indol-β-acétique dans la formation des chancres parasitaires les végétaux. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 235, No. 4, p. 309—311.
Berger U. Über Hydroperoxydproduktion bei gramnegativen Bakterien. Zugleich ein Beitrag zur Diagnostik H_2O_2-bildender Mikroorganismen. Ztschr. Hyg., 1952, Bd. 134, H. 2, S. 162—172.
Bergersen F. J. A probable growth cycle in Bacillus megaterium. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 1, p .26—29.
Bergmann E. D., Sicher and Volcani B. Action of substituted phenylalanines on Escherichia coli. Biochem. J., 1953, vol. 54, No. 1. p. 1—13.
Bernaerts M. and De Ley J. Microbiological decomposition of malto- and lactobionate. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4330, p. 713.
Bernheim F. and Deturk W. E. An aerobic cysteine desulfurase in a mycobacterium. Enzymologia, 1953, vol. 16, fasc. 2, p. 69—71.
Bernheim F. and Gale G. R. Effect of β-propiolactone on metabolism of Pseudomonas aeruginosa and growth of certain fungi. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, vol. 80, No. 1, p. 162—164.
Bernheim F. and De Turk W. F. Factors which affect the oxidation of benzoic acid by a strain of Pseudomonas aeruginosa. J. Bact., 1953, vol. 65, No 1, p. 65—68.
Bernstein I. A. Fermentation of ribose -C^{14} by Lactobacillus pentosus. J. Biol. Chem., 1953, vol. 205, No. 1, p. 309—316.
Bertani G. Infections bactériophagiques secondaires des bactéries lysogènes. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 84, No. 1, p .273—280.
Billen D., Stapleton G. F. and Hollaender A. The effect of x-radiation on the respiration of Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 131—135.
Billen D., Strehler B. L., Stapleton G. E. and Brigham E. Postirradiation release of adenosine triphosphate from Escherichia coli B/r. Arch. Biophys., 1953, vol. 43, No. 1 p. 1—10.
Birkinshaw J. H. Studies in the biochemistry of micro-organisms. 89. Metabolic products of Penicillium multicolor G.-M. and P. with special reference to sclerotiorin. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 2, p. 283—288.
Birkinshaw J. H. Chemistry of the fungi. Ann. Rev. Biochem. 1953, vol. 22, 371—398.
Bishop R. W., Shorb M. S., and Pelczar M. J. Evidence for an unidentified growth factor required by Microbacterium flavum. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, vol. 81, No. 2, p. 407—410.
Blackwood A. C. Production of cytases active on barley gum by bacteria of the genus Bacillus. Canad. J. Bot., 1953, vol. 31, No. 1, p. 28—32.
Blakley R. L. Citrate formation in Mycobacterium phlei. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 609—618.
Blumenthal H. J., Koffler H. and Goldschmidt E. P. The rate of endogenous respiration as affected by the oxidation of exogenous substrates. Science, 1952, vol. 116, No. 3018, p. 475—477.
Bogen H. J. Anfärbung, Schädigung und Abtötung von Hefezellen durch Acridinorange. Arch. Mikrobiol., 1953, Bd. 18, H. 2, S. 170—197.
Böhm P. Über das Vorkommen von Acetalphosphatiden in Bakterien. I. Tuberkelbakterien Hoppe-Seylers Ztschr. f. Physiol. Chem., 1952, Bd. 291, H. 4, S. 155—166.
Bolcato V. and Scevola M. E. On the starting reactions in the respiration of the acetate by A. niger and E. coli. Naturwiss., 1952, Jg. 39, H. 15, S. 353—354.
Bolcato V. and Scevola E. E. Acetophenone biosynthesis from phenylhydrazine during the acetate respiration by living cells of E. coli. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 9, S. 275.
Bolcato V. und Scevola M. E. New observations upon synthesis of acetophenone and benzaldehyde from phenylhydrazine during the acetate respiration with E. coli cells. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 17, S. 461.
Bolcato V., Scevola M. E. and Valcurone G. Acetylation of phenylhydrazine in acetate respiration by yeast. Naturwiss., 1952, Jg. 39, H. 9, S. 211—212.
Bolcato V., Scevola M. E., Valcurone G. and Feruglio C. Acetylation of

phenylhydrazine during the respiration of D-xylose by living cells of Torula utilis. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 43, No. 1, p. 143—146.
Bolton E. T., Britten R. and Cowie D. B. Synthesis of the aspartic and glutamic families of amino acids by Escherichia coli. Science, 1953, vol. 117, No. 3044, p. 465.
Bomstein R. A. and Johnson M. J. The mechanism of formation of citrate and oxalate by Aspergillus niger. J. Biol. Chem., 1952, vol. 198, No. 1, p. 143—153.
Bond T. J. Production of folinic acid from folic acid by Lactobacillus casei. Science, 1953, vol. 117, No. 3047, p. 563—564.
Borensztajn D. P. Kurylowicz W. Otrzymywanie koncentratów witaminy B_{12} z Płynów fermentacyjnych szczepów rodzaju Streptomyces. Medycyna doświadczalna i mikrobiologja, 1952, Rok 4, No. 4, p. 483—118.
Born G. V. R. The extracellular bacteriolytic enzymes of a species of Streptomyces. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 6, No. 3—4, p. 344—351.
Bornside G. H., Cleverdon R. C. and Kulp W. L. Effect of ultraviolet radiation on production of urease by Proteus vulgaris and Proteus mirabilis. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 63—68.
Bourdet A. et Mandel P. Les constituants puriques et pyrimidiques de la levure et la dégradation de l'acide ribonucléique au cours de l'autolyse. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 237, No. 10, p. 530—532.
Boyd W. B. and Lichstein H. C. Effect of carbohydrates on aspartic acid deaminase activity of bacteria. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, vol. 82, No. 1, p. 45—47.
Brancato F. P. and Golding N. S. The diameter of the mold colony as a reliable measure of growth. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 6, p. 848—864.
Bray G. Action de l'hydrazide l'acide isonicotinique sur les Mycobactéries. C. R. Soc. Biol., 1953, t. 147, No. 3—4, p. 345—347.
Brin M., Olson R. E. and Stare Eъ. J. Microbiological synthesis of C^{14} uniformiy labelled (L-) -and D(-)-lactate. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 39, No. 1, p. 214—218.
Brodie A. F. A bacterial diphosphoryridine nucleotide-linked cytochrome C. reductase. J. Biol. Chem., 1952, vol. 199. No. 2, p. 835—844.
Brodie A. F. and Gots J. S. The reduction of tetrazolium salts by an isolated bacterial flavoprotein. Science. 1952. vol. 116, No. 3022, p. 588—589.
Broquist H. P., Kohler R., Hutchison D. J. and Burchenal J. H. Studies on the enzymatic formation of citrovorum factor by Streptococcus faecalis. J. Biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 59—66.
Broquist H. P. and Snell E. E. Biotin and bacterial growth. II. Avidin and the response of Lactobacillus arabinosus to oleic acid. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 46, No. 2, p. 432—442.
Brown G. L. A study of yeast catalase. Acta chim. Scand., 1953, vol. 7, No. 2, p. 435—440.
Bruckner V., Kovacs J. and Dénes G. Structure of poly-D-glutamic acid isolated from capsulated strains of B. anthracis. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4376, 4376, p. 508.
Buchanan J. M. and Wilson D. W. Biosynthesis of purines and pyrimidines. Federat. Proc., 1953, vol. 12, No. 2, p. 646—650.
Burton M. O. and Lochhead A. C. Production of vitamin B_{12} by Rhizobium species. Canad. J. Bot., 1952, vol. 30, No. 5, p. 521—524.
Burton M. O. and Lochhead A. G. Nutritional requirements of Arthrobacter terregenls. Canad. J. Bot., 1953, vol. 31, No. 2, p. 145—151.
Burton R. M. and Kaplan N. O. A DPN specific glycerol dehydrogenase from Aerobacter aerogenes. J. Amer. Chem. Soc., 1953, vol. 75, No. 4, p. 1005—1006.
Butlin K. R. Bacterial sulphur cycle. Research, vol. 6, No. 5, p. 184—191.
Cabelli V. J. and Pickett M. J. The significance of lactose fermentation and its relationship to resistance in Klebsiella pneumoniae. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 4, p. 443—447.
Cabib E., Leloir L. F. and Cardini C. E. Uridine diphosphate acetylglucosamine. J. Biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 2, p. 1055—1070.
Cafiero M. Sul metabolismo del fruttoso-1,6-difosfato nell'Escherichia coli. Boll. Soc. ital. Biol. sper., 1951, vol. 27, No. 9—10, c. 1424—1426.
Cafiero M. und Zambruno D. Über den Einfluß des Colchicins auf die Vermehrung des Staphylococcus aureus. Naturwiss., 1952. Jg. 39, H. 13, S. 305.
Camien M. N. Antagonisms in the utilization of D-amino acids by lactic acid bacteria. IV. D-aspartic acid. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 2, p. 687—693.
Camien M. N. and Dunn M. S. An interrelationship between calcium ion and serine in the nutrition of Lactobacillus casei. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, vol. 81, No. 2, p. 564—566.
Campbell L. L. and Williams O. B. The effect of temperature on the nutritional requirements of facultative and obligate thermophilic bacteria. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 141—145.

Campbell L. L. and Williams O. B. Observations on the biotin requirement of thermophilic bacteria. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 2, p. 146—147.
Campbell P. N. Metabolic studies with 3-methyl glucose. 2. In vitro studies. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 3, p. 444—447.
Carroll E. J. and McBee R. H. The effect of incubation temperature on the CO_2/H_2 ratio of Escherichia coli. Proc. Montana Acad. Sci., 1952, No. 12, p. 5—10.
Cavallo G. Spore batteriche e liberazione dà calore di nucleotidi. Riv. Ist. Sieroterap. Ital., 1952, vol. 27, No. 3, p. 213—218.
Chance B. The state of catalase in the respiring bacterial cell. Science, 1952, vol. 116, No. 3008, p. 202—203.
Chance B. The carbon monoxide compounds of the cytochrome oxidases. I. Difference spectra. J. Biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 383—496.
Chance B. The carbon monoxide compounds of the cytochrome oxidases II. Photodissociation spectra. J. Biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 397—406.
Chance B. The carbon monoxide compounds of the cytochrome oxidases. III. Molecular extinction coefficients. J. Biol. Chem., 1953, vol. 202, No. 1, p. 407—416.
Chang S. C. Availability of citrovorum factor in natural materials. J. Biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 2, p. 827—833.
Cheldelin V. H., Hauge J. G. and King T. E. Participation of Coenzyme. A in oxidative dissimilation by Acetobacter suboxydans. Federat. Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 188—189.
Cheldelin V. H. and King T. E. Nutrition of microorganisms. Ann. Rev. Microbiol., 1953, vol. 7, p. 113—142.
Chiao J. S. and Peterson W. H. Microbiological assay of vitamin B_{12} with a mutant strain of Escherichia coli. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 1, p. 42—46.
Chibnall A. C., Piper S. H. and Williams E. The α-hydroxy-n-fatty acids of yeast cerebrin. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 4, p. 711—713.
Chin C. H. Effect of aeration on the cytochrome systems and respiratory activities of resting yeasts. Federat. Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part. 1, p. 311—312.
Chyrý J., Drašil V., Němcová A., Skalka M. Učinek hořčičného dusiku na spory plisné Rhizopus nigricans. Scripta Medica, 1950, vol. 23, p. 207—216.
Cimino G. L'azione delle antivitamine K sulla sintesi di vitamine da parte del Lactobacillus arabinosus. Boll. Soc. Ital. Biol. sper., 1953, vol. 29, No. 4, p. 664—666.
Claridge C. A. and Werkman C. H. Formation of 2-ketogluconate from glucose by a cell-free preparation of Pseudomonas aeruginosa. Arch. Biochem. Biophys. 1953, vol. 47, No. 1, p. 99—106.
Clark J. B. Catalase activity in Escherichia coli. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 527—530.
Clarke P. H. Hydrogen sulphide production by Bacteria. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 3, p. 397—408.
Clayton R. K. Studies in the phototaxis of Rhodospirillum rubrum. I. Action spectrum growth in green light and Weber law adherence. Arch. Mikrobiol., 1953, Bd. 19, H. 2, S. 107—124.
Clayton R. K. Studies in the phototaxis of Rhodospirillum rubrum. II. The relation between phototaxis and photosynthesis. Arch. Mikrobiol., 1953, Bd. 19, H. 2, S. 125—140.
Clayton R. K. Studies in the phototaxis of Rhodospirillum rubrum. III. Quantitaive relations between stimulus and response. Arch. Mikrobiol., 1953, Bd. 19, H. 2, S. 141—165.
Cochrane V. W. and Peck H. D. The metabolism of species of Streptomyces. VI. Tricarboxylic acid cycle reactions in Streptomyces coelicolor. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 1, p. 37—44.
Cochrane V. W., Peck H. D. and Harrison A. The metabolism of species of Streptomyces. VII. The hexosemonophosphate shunt and associated reactions. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 1, p. 17—23.
Cohen S., Kushnick J. B. and Purdy C. V. Observations on mycobacterial esterases with a series of synthetic substrates. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 266—273.
Cohen S. S. and Roth L. The phosphogluconate pathway of carbohydrate metabolism in the multiplication of bacterial viruses. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 490—495.
Cohn M., Cohen G. N. et Monod J. L'effet inhibiteur spécifique de la méthionine dans la formation de méthionine-synthèse chez Escherichia coli. C. R. Acad. Sci., Paris, 1953, t. 236, No. 7, p. 746—748.
Cohn M. and Torriani A. M. Immunochemical studies with β-galactosidase and structurally related proteins of Escherichia coli. J. Immunol., 1952, vol. 69, No. 5, p. 471—492.
Cohn M. and Torriani A. M. The relationships in biosynthesis of the β-galactosidase- and P_z-proteins in Escherichia coli. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 10, No. 2, 280—289.
Coleman R. J. Cefola M. and Nord F. F. On the mechanism of enzyme action. LII. The usefulness of I -C^{14} acetate for the study of carbohydrate → fat synthesis in Fusarium lini Bolley. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 40, No. 1, p. 102—110.

Coleman R. J. and Nord F. F. On the mechanism of enzyme action. XLIX. The effect of acetate on fat formation in Fusarium lini Bolley and the influence of added naphtoquinones. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 38, p. 385—396.
Coleman R. J. and Nord F. F. Utilization of mixed substrates in fatty acid synthesis by Fusarium lini Bolley. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 45, No. 1, p. 183—189.
Colins E. B. Relationship of the nutrition of Streptococcus lactis to bacteriophage proliferation. Jowa State Coll. J. Sci., 1951, vol. 25, No. 2, p. 185—187.
Conway E. J. and O'Malley E. The effect of carbonic anhydrase on the action of yeast carboxylase. Biochem. J., 1953, vol. 54, No. 1, p. 154—163.
Cooper P. D. and Few A. V. Uptake of potassium tellurite by a sensitive strain of Escherichi coli. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 4, p. 552—557.
Corbett J. J. Effects of sodium chloride on the dosage-response curve of Lactobacillus leichmannii to vitamin B_{12}. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 6, p. 889—890.
Courtois C. et Chantrenne H. Formation induite de catalase chez la levure. Arch. Int. Physiol., 1953, vol. 61, fasc. 4, p. 559—560.
Cowie D. B. and Bolton E. T. Sulfur metabolism in Escherichia coli. IV. Influence of non-methionine sulfur compounds upon a methionine requiring mutant. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 87—96.
Crewther W. G. Studies on Aerobacillus polymyxa. IV. Factors affecting the production of hydrogenase and the hydrogenlyase systems. Austral. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 2, p. 190—197.
Crewther W. G. Studies on Aerobacillus polymyxa. V. The significance of the Michaelis constants of the hydrogenlyase systems and related enzymes. Austral. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 2, p. 198—204.
Crewther W. G. Studies on Aerobacillus polymyxa. VI. Some properties of the hydrogenlyase systems of bacteria. Austral. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 2, p. 205—221.
Crewther W. G. and Lennox F. G. Enzymes of Aspergillus oryzae. III. The sequence of appearance and some properties of the enzymes liberated during growth. Austral. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 3, p. 410—427.
Crewther W. G. and Lennox F. G. Enzymes of Aspergillus oryzae. IV. Fractionation and preparation of crystals rich in protease. Austral. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 3, p. 428—446.
Culot J. P. A propos de l'assimilation de composés organiques du phosphore par «Aspergillus niger». Arch. Int. Physiol., 1953, vol. 61, fasc. 2, p. 251.
Cutinelli C., Ehrensvärd G., Högström L. R., Saluste E. and Stjernholm R. Acetic acid metabolism in Rhodospirillum rubrum under anaerobic condition. III Arkiv. kemi, 1952, vol. 3, No. 5, p. 501—509.
Cutts N. S. and Rainbow C. The formation of pigment and arylamine by yeasts. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 1—2, p. 54—60.
Dagley S. and Dawes E. A. Citric acid metabolism of Aerobacter aerogenes. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 259—265.
Dagley S. and Dawes E. A. Dissimilation of citric acid by bacterial extracts. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4373, p. 345—346.
Dagley S. and Dawes E. A. Dissimilation of citric acid by extracts of Aerobacter aerogenes. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 2, p. XVI.
Dagley S., Dawes E. A. and Foster S. M. Effect of pH on growth of Aerobacter aerogenes and Escherichia coli in synthetic media. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 4, p. XXI—XXII.
Dagley S., Dawes E. A. and Foster S. M. The influence of pH value and aeration on the growth of Aerobacter aerogenes and Bacterium coli in defined media. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 2, p. 314—322.
Dagley S., Dawes E. A. and Morrison G. A. Effect of aeration on pH values of bacterial cultures. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 768—769.
Dagley S., Fewster M. E. and Happold F. The bacterial oxidation of aromatic compounds. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 1, p. 1—7.
Dagley S. and Johnson A. R. The relation between lipid and polysaccharide contents of Bact. coli. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 1, p 158—159.
Dagley S. and Patel M. D. Production of keto acids from acetate by a vibrio. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 5, p. XXXVI.
Dagley S. and Rodgers A. The citric acid cycle and bacterial oxidation of aromatic acids. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 620.
Dahlstrom R. V., Hartwell W. V. and Neal A. L. Effect of golden nematode hatching factor on acid production by Aspergillus awamori. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 192—193.
Daniel L. J. and Gray L. F. Molybdenum toxicity in Lactobacillus leichmannii. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, vol. 83, No. 3, p. 487—490.
Darken M. A. Production of vitamin B_{12} by microorganisms and its occurrence in plant tissues. Bot. Rev. 1953, vol. 19, No. 2, p. 99—130.
Davies R. Enzyme formation in Saccharomyces fragilis. I. Invertase and raffinase. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 3, p. 481—496.

Davies R., Folkes J. P., Gale E. F. and Bigger L. C. The assimilation of amino acids by micro-organisms. 16. Changes in sodium and potassium accompanying the accumulation of glutamic acid or lysine by bacteria and yeast. Biochem. J., 1953, vol. 54, No. 3, p. 430—436.

Davis B. D. Aromatic biosynthesis. IV. Preferential conversion in incompletely blocked mutants of a common precursor of several metabolities. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 729—748.

Davis B. D. Aromatic biosynthesis. V. Antagonism between shikimic acid and its precursor, 5-dehydroshikimic acid. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 749—764.

Davis B. D. Utilization of pseudovitamin B_{12} by mutants of Escherichia coli. J. Bact., 1952. vol. 64, No. 3, p. 432—433.

Davis B. D. Aromatic biosynthesis. VI. Resistance to inhibition by an accumulated metabolite, 5-dehydroshikimic acid, and its significance for the mechanism of drug resistance. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 1953, vol. 39, No. 5, p. 363—365.

Davis B. D. and Mingioli E. S. Aromatic biosynthesis. VII. Accumulation of two derivatives of shikimic acid by bacterial mutants. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 2. p. 129—136.

Davis F. L. and Williams O. B. Chromatographic analysis of the amino acid composition of bacterial spores. V. Studies on heat resistance. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 766—767.

Deacon W. E. Antigenic study of certain slow lactose fermenting Aerobacter cloacae cultures. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, vol. 81, No. 1, p. 165—170.

Dean F. M., Robertson A., Roberts J. C. and Raper K. B. Nidulin and ustin: two chlorine-containing metabolic products of Aspergillus nidulans. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4373, p. 344.

Dedonder R. Etude de la glycolyse chez certaines bactéries du genre Bacillus. I. Déshydrogénases du glucose-6-phosphate et de l'acide 6-phosphogluconique chez B. subtilis et B. megatherium. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 1, p. 71—81.

Dedonder R. et Noblesse. Mise en évidence de produits intermédiaires contenant du glucose dans la synthèse des lévanes par Bacillus subtilis. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 3, p. 356—364.

De Fiebre C. W. and Knight S. G. The oxidation of glucose by Penicillum chrysogenum. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 2, p. 170—172.

De Ley J. The function of D-araboascorbate in the direct oxidation of glucose. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 9, No. 5, p. 574.

De Ley J. Oxydatie en phosphorylatie door «Aerobacter cloacae» van verschillende koolhydraten en verwante stoffen en hun verband met de directe oxydatie. Arch. int. Physiol., 1953, vol. 61, fasc. 2, p. 253—254.

De Ley J. The oxidation of some carbohydrates by Aerobacter cloacae and their connection with the direct oxidation scheme. Enzymologia, 1953, vol. 16, fasc. 1, p. 14—22.

De Ley J. en Vermeulen A. Het metabolisme van gluconaat en galactonaat in «Aerobacter cloacae». Arch. int. Physiol., 1953, vol. 41, fasc. 2, p. 254.

Delluva A. M. Some aspects of threonine and serine biosynthesis in E. coli. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 45, No. 2, p. 443—446.

Delwiche E. A. and Carson S. F. A citric acid cycle in Propionibacterium pentosaceum. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 318—321.

Delwiche E. A., Phares E. F. and Carson S. Succinate decarboxylation reaction in Propionibacterium. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 194—195.

De Moss R. D., Gunsalus C. and Bard R. C. A. glucose-6-phosphate dehydrogenase in Leuconostoc mesenteroides. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 1, p. 10—16.

Denault L. J., Cleverdon R. C. and Kulp W. Nitrogen compounds utilized by Alcaligenes faecalis. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 4, p. 465—467.

Derrick M. J., Miller R. E. and Sevag M. G. Yeast phosphatase. Immunological method of determining its location in the cell. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 196.

Di Carlo F. J., Schultz A. S. and Kent A. M. The mechanism of allantoin catabolism by yeast. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 44, No. 2, p. 468—474.

Dirkx J. La synthèse prégerminatoire de l'acide ribonucléique chez les spores de différentes espèces de moisissures. Arch. int. Physiol., 1952, vol. 60, fasc. 4, p. 556.

Dolin M. Lipoic acid function: α-dicarbonyl oxidation by Streptococcus faecalis, IOCI. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 198.

Dolin M. I. The oxidation and peroxidation of DPNH in extracts of Streptococcus faecalis, IOCI. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 46, No. 2, p. 483—484.

Downing M., Rose I. A. and Schweigert B. S. Purine and pyrimidine requirements of Lactobacillus leichmannii in the presence of vitamin B_{12} or thymidine. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 141—143.

Dubnoff J. W. The role of B_{12} in methionine synthesis in E. coli. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 37, No. 1, p. 37—45.

Dubnoff J. W. Influence of vitamin B_{12} on enzyme activity in E. coli 113-3. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 198.

Dudani A. T. Proteolytic and coagulating enzymes of enterococci. Jowa State Coll. J. Sci., 1951, vol. 25, No. 2, p. 198—200.
Duguid J. P. and Wilkinson J. F. The influence of cultural conditions on polysaccharide production by Aerobacter aerogenes. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 2, p. 174—189.
Dulaney E. L. Observations on Streptomyces griseus. VI. Further studies on strain selection for improved streptomycin production. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 4, p. 481—487.
Dulaney E. L. and Williams P. L. Observations on Streptomyces griseus. V. Synthetic media for vitamin B_{12} production with special reference to vitamin B_{12} precursors. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 3, p. 345—358.
Duraiswami S. Physiological consequences of polyploidy in yeasts. III. Influence of alcohol on the glucose metabolism of the diploid and autotetraploid brewery yeasts. J. Ind. Inst. Sci., 1952, vol. 34, No. 2, p. 107—118.
Dworschack R. G., Koepsell H. J. and Lagoda A. A. Proteolytic enzymes of microorganisms. Evaluation of proteinases produced by molds of the Aspergillus flavus-oryzae group in submerged culture. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 41, No. 1, p. 48—60.
Eades C. H. and Womack M. Calcium as a growth stimulant for Lactobacillus casei. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 322—325.
Ebel J. P. Recherches sur les polyphosphates contenus dans diverses cellules vivantes. III. Recherche et dosage des polyphosphates dans les cellules de divers microorganismes et animaux supérieurs. Bull. Soc. Chim. Biol., Paris, 1952, t. 34, No. 5—6, p. 491—497.
Ebel J. P. Recherches sur les polyphosphates contenus dans diverses cellules vivantes. IV. Localisation cytologique et rôle physiologique des polyphosphates dans la cellule vivante. Bull. Soc. Chim. Biol., Paris, 1952, t. 34, No. 5—6, p. 498—505.
Eddy B. P. Bacterial degradation of choline. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4352, p. 573—574.
Eddy B. P. and Ingram M. Interactions between ascorbic acid and bacteria. Bact. Rev., 1953, vol. 17, No. 2, p. 93—107.
Edelman J. and Bealing F. J. Transfructosidation by mould invertase preparations. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 1, p. II.
Edmonds M., Delluva A. M. and Wilson D. W. The metabolism of purines and pyrimidines by growing yeast. J. Biol. Chem., 1952, vol. 197, No. 1, p. 251—260.
Egami F., Ishihara H. und Shimomura M. Über die methylierte Heferibonuclein säure. Hoppe-Seyler's Ztschr. Physiol. Chem., 1953, Bd. 295, S. 349—353.
Eisenberg M. A. The tricarboxylic acid cycle in Rhodospirillum rubrum. J. Biol. Chem., 1953, vol. 203, No. 2, p. 815—836.
Elion G. B. and Singer S. Purine metabolism of a 6-mercaptopurine-resistant strain of Lactobacillus casei. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 200.
Elion G. B., Singer S. and Hitchings G. H. The purine metabolism of a 6-mercaptopurine-resistant Lactobacillus casei. J. biol. Chem., 1953, vol., 204, No. 1, p. 35—42.
Elion G. B., Vanderwerff H., Hitchings G. H., Balis M. E., Levin D. H. and Brown G. B. Purine metabolism of a diaminopurine-resistant strain of Lactobacillus casei. J. Biol. Chem., 1953, vol. 200, No. 1, p. 7—16.
Ellfolk N. Studies on aspartase. I. Quantitative separation of aspartase from bacterial cells, and its partical purification. Acta chim. Scand., 1953, vol. 7, No. 5, p. 824—830.
Elsden S. R. and Lewis D. The production of fatty acids by a gramnegative coccus. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 1, p. 183—188.
Elsden S. R. and Ormerod J. G. The action of monofluoroacetate on the metabolism of Rhodospirillum rubrum. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 1, p. 111.
Entner N. and Doudoroff M. Glucose and gluconic acid oxidation of Pseudomonas saccharophila. J. Biol. Chem., 1952, vol. 196, No. 2, p. 853—862.
Ericson L.-E. and Bánhidi Z. G. Bacterial growth factors related to vitamin B_{12} and folinic acid in some brown and red seaweeds. Acta chim. Scand., 1953, vol. 7 No. 1, p. 167—172.
Ericson L.-E. Bánhidi Z. G. and Gasparetto G. Separation of growth factors for Lactobacillus lactis Dorner, Lactobacillus leichmannii and Leuconostoc citrovorum by means of ionophoresis on paper. Acta chim. Scand., 1952, vol. 6, No. 7, p. 1130—1132.
Ericson L. E. and Sjöström A. G. M. Growth factors for E. coli 113-3, other than the vitamin B_{12}-group or methionine. Acta chim. Scand., 1953, vol. 7, No. 4,
Erikson D. and Webley D. M. The respiration of a thermophilic actinomycete. Micromonospora vulgaris. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 3, p. 455—463.
Ericson L.-E., Widoff E. and Bánhidi Z. Studies of growth factors for Streptococcus faecalis occurring in marine algae. Acta chim. Scand., 1953, vol. 7, No. 6, p. 974—979.
Evans D. G. and Wardlaw A. C. In vitro and in vivo properties of culture filtrates of Bacillus subtilis with high gelatinase activity. J. gen. Microbiol., 1952, vol. 7, No. 3—4, p. 397—408.

Evans D. G. and Wardlaw A. C. Gelatinase and collagenase production by certain species of Bacillus. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 3, p. 481—487.
Evans E. E. and Theriault R. J. The antigenic composition of Cryptococcus neoformans. IV. The use of paper chromatography for following purification of the capsular polysaccharide. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 571—577.
Ewald G. and Bruchmann E.-E. Elektrochemische Messung der Atmung von Hefe bei Einwirkung von Azid und Jodacetat. Biochem. Ztschr., 1953, Bd. 324, H. 2, S. 156—159.
Fabian F. W. and Graham H. T. Viability of thermophilic bacteria in the presence of varying concentrations of acids, sodium chloride and sugars. Food Technol., 1953, vol. 7, No. 5, p. 212—217.
Fabian F. W. and Pivnivk H. Growth of bacteria in soluble oil emulsions. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 4, p. 199—203.
Faguet M. Propriétés inhibitrices de différents sucres sur la croissance de certains microorganismes. Ann. Inst. Pasteur, 1953, t. 85, No. 3, p. 408—410.
Fang S. C. and Butts J. S. Thiamine sparing action of ascorbic acid on Lactobacillus fermenti 36. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, vol. 82, No. 4, p. 617—620.
Felton E. A., Evans J. B. and Niven C. F. Production of catalase by the pediococci. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 4, p. 481.
Fergus Ch. L. The nutrition of Penicillium digitatum Sacc. Mycologia, 1952, vol. 44, No. 2, p. 183—199.
Fernell W. R. and King H. K. The chemical composition of the soluble and insoluble fractions of the bacterial cell. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 5, p. 758—762.
Few A. V. and Schulman J. H. Absorption of polymyxin by bacteria. Nature, Lond., 1953, vol. 171, No. 4354, p. 644.
Few A. V. and Schulman J. H. The absorption of polymyxin E by bacteria and bacterial cell walls and its bactericidal action. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 3, p. 454—466.
Field J. T., Morris R. C. and Poe C. F. Fermentation of polyhydric alcohols by the genera Escherichia and Aerobacter. II. 1-Inositol. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 2, pp. 112—116.
Fischer G. Untersuchungen über den biologischen Abbau des Lignins durch Mikroorganismen. Arch. Mikrobiol., 1953, Bd. 18, H. 4, S. 397—424.
Flaig W., Küster E., Segler-Holzweißig G. und Beutelspacher H. Zur Kenntnis der Huminsäuren. V. Mitteilung. Über die Bildung von humisäureähnlichen Stoffen aus Streptomyceten-Kulturen. Ztschr. Pflanzenernähr. Bodenkunde, 1952, Bd. 57, H. 1, S. 42—51.
Flannery W. L., Doetsch R. N. and Hansen P. A. Salt desideratum of Vibrio costicolus, an obligate halophilic bacterium. I. Ionic replacement of sodium chloride requirement. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 5, p. 713—718.
Flannery W. E., Doetsch R. N. and Hansen P. Salt desideratum of Vibrio costicolus, an obligate halophilic bacterium. II. Effect of salts on the oxidation of glucose. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 526—530.
Foda I. O. and Vaughn R. H. The nutritional requirements of Acetobacter melanogenum and related species. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 1, p. 79—82
Foda I. O. and Vaughn R. H. Oxidation of maltose by Acetobacter melanogenum. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 3, p. 233—237.
Fornachon J. C. M. The accumulation of acetaldehyde by suspensions of yeasts. Austrl. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 2, p. 222—233.
Foulkes E. C. Alternative pathway of citrate oxidation in yeast. Federation Proc 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 203—204.
Foulkes F. C. On the isolation and properties of a citrate oxidation factor from yeast. Biochem. J., 1953, vol. 54, No. 2, p. 323—327.
Fowler E. B. Mechanism of ammoniation in Aerobacter aerogenes. Jowa State Coll. J. Sci., 1952, vol. 26, No. 2, p. 204—205.
Fowler E. B. and Werkman C. H. Bacterial synthesis of alanine and glutamate. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 41, No. 1, p. 42—47.
Francis J., Macturk H. M., Madinaveitia and Snow G. A., Mycobactin, a growth factor for Mycobacterium johnei. I. Isolation from Mycobacterium phlei Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 4, p. 596—606.
Franke W., Taha E.-E. M. und Krieg L. Purinoxydierende Fermente aus Schimmelpilzen. Arch. Mikrobiol., 1952, Bd. 17, H. 3, S. 255—291.
Fraser D. and Jerrel E. A. The amino acid composition of T_3 bacteriophage. J. Biol. Chem., 1953, vol. 205, No. 1, p. 291—296.
Freeman P. J. and Giese A. C. Photodynamic effects on metabolism and reproduction in yeast. J. Cell. Comp. Physiol., 1952, vol. 39, No. 2, p. 301—322.
French D., Suhadolnik R. J. and Underkofler L. A. Oxidation of disaccharide alcohols by Acetobacter suboxydans. Science, 1953, vol. 117, No. 3031, p. 100—102.
Frieber W. Indolbildung bei Bakterien. Internatl Bull. Bact. Nomen. and Tax., 1952, vol. 2, No. 3, p. 94—95.
Fried J., Thoma R. W. and Klingsberg A. Oxidation of steroids by microorganisms. III. Side chain degradation ring D-cleavage and dehydrogenation in ring A. J. Amer. Chem. Soc., 1953, vol. 75, No. 22, p. 5764—5765.

Friedberg F. On the incorporation of radioactive amino acids into the protein fraction of Torula utilis. Exper., 1953, vol. 9, fasc. 11, p. 425.
Friedkin M. Purine and pyrimidine metabolism in microorganisms. J. Cell. Comp. Physiol., 1953, vol. 41, Suppl. 1, p. 261—282.
Friedman M. E., Nelson W. O. and Wood W. Proteolytic enzymes from Bacterium linens. J. Dairy Sci., 1953, vol. 36, No. 10, p. 1124—1134.
Friedman M. E., Wood W. A. and Nelson W. The influence of various metabolites upon the p-aminobenzoate-pantothenate interaction in Bacterium linens. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5. p. 568—571.
Friedman S. and Fox C. L. Effects of potassium on purine synthesis and growth in Escherichia coli. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 205—206.
Friedman S. and Gots J. S. The purine and pyrimidine metabolism of normal and phage infected Escherichia coli. J. Biol. Chem., 1953, vol. 201, No. 1, p. 125—135.
Frisch-Niggemeyer W. Die Freisetzung hochviskoser Desoxyribonukleinsäure aus Bakterien unter dem Einfluss von Lysozym. Enzymologia, 1953, vol. 16, fasc. 2, p. 72—74.
Fukui G. M. and Vandemark P. J. Evidence for a tricarboxylic acid cycle in Corynebacterium creatinovorans. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 6, p. 887—888.
Furusaka Choseki. Studies on the dehydrogenases of butyric acid bacterium B_2. II. On the decay of dehydrogenase activities of cell suspensions. Tohoku. J. Agric. Res., 1952, vol. 2, No. 2, p. 59—63.
Gale E. F. and Folkes J. P. The assimilation of amino acids by bacteria. 14. Nucleic acid and protein synthesis in Staphylococcus aureus. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 3, p. 483—492.
Gale E. F. and Folkes J. P. The assimilation of amino acids by bacteria. 15. Actions of antibiotics on nucleic acid and protein synthesis in Staphylococcus aureus. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 3, p. 493—497.
Gale E. F. and Folkes J. P. The assimilation of amino acids by bacteria. 18. The incorporation of glutamic acid into the protein fraction of Staphylococcus aureus. Biochem. J., 1953. vol. 55, No. 5, p. 721—729.
Gale E. F. and Folkes J. P. The assimilation of amino acids by bacteria. 19. The inhibition of phenylalanine incorporation in Staphylococcus aureus by chloramphenicol and p-chlorophenylalanine. Biochem. J., 1953, vol. 55, No. 5, p. 730—734.
Gale G. R. The oxidation of benzoic acid by Mycobacteria. II. The metabolism of postulated intermediates in the benzoate oxidation chain by four avirulent and two virulent organisms. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 131—135.
Gandelman B., Zamenhof S. and Chargaff E. The desoxypentose nucleic acids of three srains of Escherichia coli. Biochim. Biophys. Acta, 1952, vol. 9, No. 4, p. 339—401.
Gary N. D. and Bard R. C. Effect of nutrition on the growth and metabolism of Bacillus subtilis. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 501—512.
Gibbs M. and Gastel R. Glucose dissimilation by Rhizopus. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 43, No. 1, p. 33—38.
Giglio D. M. and Mc Cleskey C. S. The fermentation of sucrose by Leuconostoc mesenteroides. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 1, p. 75—78.
Gillespie J. M. and Woods E. F. Enzymes of Aspergillus oryzae. V. Ethanol fractionation at low ionic strengths. Austr. J. Biol. Sci., 1953, vol. 6, No. 3, p. 447—462.
Gilvarg C. and Bloch K. Utilization of glucose-1-C^{14} for the synthesis of phenylalanine and tyrosine. J. Biol. Chem., 1952, vol. 199, No. 2, p. 689—698.
Giri K. V., Narasimha P. L., Saroja R. K. and Venkataraman R. Enzymic synthesis of oligosaccharides by Penicillium chrysogenum Q-176. Naturwiss., 1953, Jg. 40, H. 18, S. 484—485.
Gitterman C. O. and Knight S. G. Carbon dioxide fixation into amino acids of Penicillium chrysogenum. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 2, p. 223—232.
Gjessing E. C. Growth stimulatory factors in plasma for Staphylococcus albus and Streptococcus faecalis. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 1, part 1, p. 208.
Godin P. Etude du métabolisme ternaire de Penicillium brevi-compactum. I. Analyse chromatographique du milieu de culture. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 1, p. 114—118.
Godin P. Etude du métabolisme ternaire de Penicillium brevi-compactum. II. Analyse chromatographique de la solution glucosée substituée au milieu de culture initial. Biochim. Biophys. Acta, 1953, vol. 11, No. 1, p. 119—121.
Goldman M. L. and Rayman M. M. Hydrolysis of fats by bacteria of the Pseudomonas genus. Food Res., 1952, vol. 17, No. 4, p. 326—337.
Goldschmidt M. C. and Powelson D. M. Effect of the culture medium on the oxidation of acetate by Micrococcus pyogenes var. aureus. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 46, No. 1, p. 154—163.
Goldstein D. B. and Goldstein A. An adaptive bacterial cholinesterase from a Pseudomonas species. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 8, No. 1, p. 8—17.
Goodwin T. W. and Griffiths L. A. Carotene synthesis by some naturally occurring

mutants of Phycomyces blakesleeanus and by Phycomyces nitens: inhibition of carotenogenesis by Streptomycin. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 4, p. XXXIII.
Goodwin T. W. and Griffiths L. A. Studies in carotenogenesis. 5. Carotene production by various mutants of Phycomyces blakesleeanus and by Phycomyces nitens. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 3, p. 499—501.
Goodwin T. W., Jamikorn M. and Willmer J. Studies in carotenogenesis. 7. Further observations concerning the action of diphenylamine in inhibiting the synthesis of β-carotene in Phycomyces blakesleeanus. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 4, p. 531—537.
Goodwin T. W., Lijinsky W. and Willmer J. Studies in carotenogenesis. 6. The effect of some possible carotene precursors on growth lipogenesis and carotenogenesis in the fungus Phycomyces blakesleeanus. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 2, p. 208—212.
Goodwin T. W. and Osman H. G. Spirilloxanthin synthesis by resting cells of Rhodospirillum rubrum. Biochem. J., 1953, vol. 54, No. 2, p. V.
Goodwin T. W. and Osman H. G. Studies in carotenogenesis. 9. General cultural conditions controlling carotenoid (spirilloxanthin) synthesis in the photosynthetic bacterium Rhodospirillum. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 4, p. 541—546.
Gots J. S. Occurrence of 4-amino-5-imidazolecarboxamide as a pentose derivative. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4371, p. 256—257.
Gots J. S. and Chu E. C. Studies on purine metabolism in bacteria. I. The role of p-aminobenzoic acid. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 4, p. 537—546.
Gots J. S. and Hunt G. R. Amino acid requirements of the maturation of bacteriophage in lysogenic Escherichia coli. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 353—361.
Gottlieb D. and Legator M. The growth and metabolic behavior of Streptomyces venezuelae in liquid culture. Mycologia, 1953, vol. 45, No. 4, p. 507—515.
Gould B. S., Bosniak M. A., Neidleman S. and Gatt S. Effect of hexachlorophene and related bisphenolic compounds on the dehydrogenases and cytochrome system of Bacillus subtilis and Escherichia coli. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 44, No. 2, p. 284—297.
Grabiec S. J. Metabolizm węglowy gronkowców. Biul. Panstowowego Inst. med. trop. w Gdańsku, 1952, vol. 4, No. 3, s. 319—330.
Graham D. M. and Potter N. N. Growth characteristics of the lactic streptococcus bacteriophage. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 3, p. 138—142.
Grandchamp-Chaudun A. Sur l'action inhibitrice du galactose dans l'analyse du saccharase par la saccharase de la levure. C. R. Acad. Sci., Paris, 1952, t. 235, No. 18, p. 1060—1062.
Gray C. T. The malonic decarboxylase of Pseudomonas aeruginosa. J. Bact., 1952, vol. 63, No. 6, p. 813—820.
Green M., Alexander M. and Wilson P. W. Hydrogenase in nitrogenase-deficient Azotobacter mutants. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, vol. 82, No. 2, p. 361—363.
Green M. and Wilson P. W. Hydrogenase and nitrogenase in Azotobacter. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 511—517.
Green M. and Wilson P. W. The utilization of nitrate nitrogen by the Azotobacter. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 1, p. 89—96.
Greenberg G. R. Mechanisms involved in the biosynthesis of purines. Federation Proc., 1953, vol. 12, No. 2, p. 651—659.
Grégoire P E. Isolement d'un second pigment du mycélium d'Aspergillus elegans Gasperrini: L'aspélacine. Bull. Soc. Chim. Biol., Paris, 1952, t. 34, No. 7—8, p. 761—766.
Gregory M. E. and Woodbine M. Microbiological synthesis of fat. J. Exp. Bot., 1953, vol. 4, No. 12, p. 314—318.
Gross S. R. A biochemical requirement for the reproduction of phage T_{2rI}. Genetics, 1952, vol. 37, No. 5, p. 589.
Grosskinsky L. und Stürmer E. Über den Einfluß von Tabakrauch auf die Atmung von Hefezellen. Ztschr. Ges. Exp. Med., 1953, Bd. 122, H. 2, S. 167—169.
Grunberg-Manago, Szulmajster J. et Delavier C. Formation et décomposition de l'eau oxygénée par les bactéries. Ann. Inst. Pasteur, 1952, t. 83, No. 1, p. 102—117.
Gunsalus I. C. The chemistry and function of the pyruvate oxidation factor (lipoic acid). J. Cell. Comp. Physiol., 1953, vol. 41, Suppl. 1, p. 113—136.
Gunsalus I. C., Gunsalus C. F. and Stanier R. The enzymatic conversion of mandelic acid to benzoic acid. I. Gross fractionation of the system into soluble and particulate components. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 538—542.
Gunsalus C. F., Stanier R. Y. and Gunsalus I. C. The enzymatic conversion of mandelic acid to benzoic acid. III. Fractionation and properties of the soluble enzymes. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 548—553.
Güntelberg A. V. and Ottesen M. Preparation of crystals containing the plakalbumin-forming enzyme from Bacillus subtilis. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4332, p. 802.

Günter S. E. The enzymatic oxidation of p-hydroxymandelic acid to p-hydroxybenzoic acid. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 3, p. 341—346.
Gyllenberg H. and Raitio A. Studies of the decomposition of cellular lipids of molds. Physiol. Plant., 1952, vol. 5, fasc. 3, p. 367—371.
Gyllenberg H., Rossander M. and Roine P. A strain of Lactobacillus bifidus which requires strepogenin. J. gen. Microbiol., 1953, vol. 9, No. 2, p. 190—198.
Gyllenberg H., Rossander M. and Roine P. Strepogenin as a growth factor for Lactobacillus bifidus. Acta chim. Scand., 1953, vol. 7. No. 4, p. 694—695.
Haas G. J. and Sevag M. G. Sparing effects of mono- and dicarboxylic acids on the p-aminobenzoic acid requirement of Lactobacillus arabinosus 17-5. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 41, No. 1, p. 234—235.
Hager L. P. and Gunsalus I. C. Lipoic acid dehydrogenase: the function of E. coli fraction B. J. Amer. Chem. Soc., 1953, vol. 75, No. 22, p. 5767—5768.
Hahn F. E. Über Kernäquivalente und Reduktionsorte in Bakterien. Naturwiss., 1952, Jg. 39, H. 22, S. 527—528.
Hall A. N., Thomas G. A., Tiwari K. S. and Walker T. K. Nutrition of Acetobacter species. Arch. Biochem. Biophys., 1953, vol. 46, No. 2, p. 485—487.
Hall A. N., Tiwari K. S. and Walker T. K. The influence of pH value and of carbon source on the nutritional requirements of Acetobacter suboxydans. Biochem. J., 1952, vol. 51, No. 4, p. XXXVI.
Hall H. H., Benedict R. G., Wiesen C. E., Smith C. E. and Jackson R. W. Studies on vitamin B_{12} production with Streptomyces olivaceus. Appl. Microbiol., 1953, vol. 1, No. 3, p. 124—129.
Halliwell G. The effect of aeration on the metabolism of acetate by Aspergillus niger. J. Exp. Bot., 1953, vol. 4, No. 12, p. 369—376.
Halliwell G. and Walker T. K. The metabolism of glucose and acetate in Aspergillus niger. J. Exp. Bot., 1953, vol. 3, No. 8, p. 155—161.
Halvorson H. O. and Spiegelman S. The inhibition of enzyme formation by amino acid analogues. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 2. p. 207—223.
Halvorson H. O. and Spiegelman S. The effect of free amino acid pool levels on the induced synthesis of enzymes. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 496—504.
Halvorson H. O. and Spiegelman S. Net utilization of free amino acids during the induced synthesis of maltozymase in yeast. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 601—608.
Hamilton L. Utilization of purines for nucleic acid synthesis in chrysomonads and other organisms. Ann. New York Acad. Sci., 1953, vol. 56, art. 5, p. 961—968.
Hanahan D. J. and al-Wakil S. J. The biosynthesis of ergosterol from isotopic acetate. Arch. Biochem. Biophys., 1952. vol. 37, No. 1, p. 167—171.
Hanson H. und Mantel E. Untersuchungen über den intermediären S-Stoffwechsel. IV. Über die im Substrat gelegenen Bedingungen der Desuflurierbarkeit durch E. coli. Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem., 1953, Bd. 295, S. 141—154.
Harris J. O. Electrophoretic behavior and crystal violet adsorption capacity of ribonuclease treated bacterial cells. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 518—521.
Harris J. and Knight C. A. Action of carboxypeptidase on tobacco mosaic virus. Nature, Lond., 1952, vol. 170, No. 4328, p. 613—614.
Havas H. F. and McGeady A. P. The groweh promoting and antisulfonamide activity of pteroylglutamic acid and related compounds for Escherichia coli and Aerobacter aerogenes. J. Bact., 1953, vol. 66, No. 5, p. 531—537.
Hayaishi O. Phospholipide metabolism of Serratia plymuthicum. Federation Proc., 1953, vol. 12, N. 1, part 1, p. 216.
Heagy F. C. and Roper J. A. Deoxyribonucleic acid content of haploid and diploid Aspergillus conidia. Nature, Lond., 1952, vol. 170. No. 4330, p. 713.
Heald P. J. The metabolism of glucuronic acid by xylose-fermenting coliform bacteria. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 3, p. 378—383.
Hendlin D., Koditschek L. K. and Soars M. H. Investigations on the biosynthesis of citrovorum factor by lactic acid bacteria. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 4, p. 466—471.
Henriksen S. D. Indol production of bacteria. Internatl Bull. Bact. Nomen. and Tax., 1952, vol. 2, No. 4, p. 141—142.
Henssler W. Eiweiße rzeugung auf biologischsynthetischem Wege. Urania. 1953, Jg. 16, H. 1, S. 19—22.
Hershey A. D. Nucleic acid economy in bacteria infected with bacteriophage T_2. II. Phage precursor nucleic acid. J. gen. Physiol., 1953, vol. 37, No. 1, p. 1—24.
Hershey A. D. and Chase M. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. J. gen. Physiol., 1952, vol. 36, No. 1, p. 39—56.
Hershey A. D., Dixon J. and Chase M. Nucleic acid economy in bacteria infected with bacteriophage T_2. I. Purine and pyrimidine composition. J. gen. Physiol., 1953 vol. 36, No. 6, p. 777—789.
Hesseltine C. W., Hauck M., Hagen M. and Bohonos N. Isolation and growth of yeasts in the presence of aureomycin. J. Bact., 1952, vol. 64, No. 1, p. 55—61.

Hestrin S. and Goldblum J. Laevanpolyase. Nature, Lond., 1953, vol. 172, No. 4388, p. 1046—1047.
Hestrin S. and Lindegren C. C. Carbohydrases in Saccharomyces haploid stocks of defined genotype. II. Gene-controlled induction of glucosidases by α-glucosides. Arch. Biochem. Biophys., 1952, vol. 38, p. 317—334.
Heumann W. Die asymbiontische Stickstoffbindung durch Rhizobium leguminosarum (Pisum) auf Blutnährböden. Naturwiss., 1952, Jg. 39, H. 10, S. 239.
Heumann W. Die asymbiontische Stickstoffbindung durch Rhizobium leguminosarum mit Hilfe anorganischer Katalysatoren. Naturwiss., 1952, Jg. 39, H. 12, S. 287.
Hickey R. J. Some nutritional requirements for biosynthesis of riboflavin by Eremothecium ashbyii. J. Bact., 1943, vol. 66, No. 1, p. 27—33.
Hilgetag G. Über die biologische Fettsynthese mit Mikroorganismen, Wissenschaftl. Ztschr. der Martin Luther Univ., Halle-Wittenberg, 1952/53, Jg. 2, H. 1, S. 78.
Hill C. H. Studies on the inhibition of growth of Streptococcus faecalis by sodium propionate. J. Biol. Chem., 1952, vol. 199, No. 1, p. 329—332.
Hill C. H. Interrelationship between thioctic acid, L-lyxoflavin, and riboflavin in Streptococcus faecalis. J. Bact., 1953, vol. 65, No. 5, p. 578—580.
Hirsch M. L. and Cohen G. N. Amino acid utilization in bacterial growth. I. Peptide utilization by a leucine-requiring mutant of Escherichia coli. Biochem. J., 1952, vol. 53, No. 1, p. 25—29.
Hobson P. N. and MacPherson M. Amylases of Clostridium butyricum and a Streptococcus isolated from the rumen of the sheep. Biochem. J., 1952, vol. 52, No. 4, p. 671—679.
Hobson P. N. and MacPherson M. J. A serologically active polysaccharide from the capsules of amylolytic rumen streptococci. Biochem. J., 1953, vol. 53, No. 4, p. XXXVIII.
Hoffmann C. E. and Lampen J. O. Products of desoxyribose degradation by Escherichia coli. J. Biol. Chem., 1952, vol. 198, No. 2, p. 885—894.

ХРОНИКА

КОНФЕРЕНЦИЯ ПО МИКРОБИОЛОГИИ ПОЧВЫ В ЧЕХОСЛОВАКИИ

(22—24 февраля 1954 г.)

Конференция в Либлицах и ее участники

Отделение биологических наук Академии наук и Академия сельскохозяйственных наук Чехословакии созвали в феврале с. г. конференцию, посвященную вопросам почвенной микробиологии. Тематическое содержание работы конференции вытекало из ее наименования «Задачи почвенной микробиологии при введении травопольной системы». Однако тематика представленных докладов была более широка. По существу конференция была связана с вопросами почвенной, сельскохозяйственной микробиологии и фитопатологии. На ней освещались также работы по изучению низших представителей животного мира почвы.

Целесообразность созыва отмеченной конференции вряд ли может вызвать сомнение. Общепризнанное значение живых микроорганизмов в формировании почвы и в ее плодородии заставляет с должным вниманием отнестись к миру низших растительных и животных организмов, в огромных количествах населяющих почву. Старые кадры чешских биологов, связанных с вопросами почвоведения, невелики, а вопрос о развитии в значительно более широком масштабе только что указанных работ уже назрел. Это привело к привлечению в научно-исследовательские учреждения Чехословакии большой группы молодых сил. Конечно, было целесообразно просмотреть их работу и подвергнуть ее обсуждению.

К работам конференции были привлечены сотрудники научно-исследовательских учреждений Академии наук, Академии сельскохозяйственных наук, университетов, сельскохозяйственных институтов и научно-исследовательской сети Министерства земледелия и Министерства лесоводства Чехословакии. Общее число участников доходило до 100—120. Здесь были в основном микробиологи, зоологи и фитопатологи. Однако присутствовало немало почвоведов и агрономов.

Из старшего поколения ученых участвовали в работах конференции: акад. И. Малек (академик-секретарь Отделения биологических наук Академии наук Чехословакии), члены-корреспонденты Академии с.-х. наук В. Каш (микробиолог), К. Кроулик (микробиолог), проф. В. Новак (почвовед). Регулярно присутствовал на заседаниях конференции чл.-корр. вице-президент Академии с.-х. наук Е. Фолтин.

За исключением указанных выше лиц и декана Биологического факультета университета г. Праги д-ра Я. Зейферта (микробиолог), почти все остальные специалисты — участники конференции могут быть отнесены к начинающим исследователям (возраст 26—30 лет).

Из-за рубежа на конференцию были приглашены представители Советского Союза. В качестве таковых Академия наук СССР делегировала двух специалистов — Е. Н. Мишустина (чл.-корр. АН СССР), работающего в области почвенной микробиологии, и М. С. Гилярова (профессора, доктора биологических наук), изучающего животное население почвы.

Работа конференции протекала в местечке Либлицы, находящемся в 30 км от Праги. Заседания происходили в доме научных работников имени Я. Пуркине. Программа конференции включала около 50 докладов. Три из них, так называемые «главные доклады», имели программный характер, а остальные носили характер кратких сообщений. На «главные доклады» отводилось около одного часа, на ординарные сообщения — 15—20 минут. После заслушивания группы тематически однородных докладов возникали оживленные прения.

Советские гости просили поставить их сообщения в конце работ конференции. Это дало возможность не только сообщить свой материал, но попутно сделать и критические замечания по сообщениям исследователей Чехословакии.

Работы конференции были начаты 22 февраля и завершились 24 февраля. Конференция была открыта акад. И. Малек.

Содержание работ конференции

Переходим к краткому рассмотрению сущности заслушанных докладов, которые подводят итоги работы биологов Чехословакии в области почвенной и сельскохозяйственной микробиологии. В качестве программных докладов были прослушаны три сообщения.

1. Члена-корр. Академии с.-х. наук В. Каш: «Роль микробов в образовании плодородия почвы и питании растений».

2. Д-ра М. Станек: «Задачи почвенной микробиологии в фитопатологической практике».

3. Д-ра Я. Зейферт: «Микробы как необходимое слагаемое биологической базы при образовании леса».

Только что отмеченные доклады носили в основном обзорный характер. Свои экспериментальные данные более подробно авторы давали в дополнительных сообщениях.

В своем докладе В. Каш коснулся вопроса об участии микробов в образовании плодородия почвы и о взаимоотношениях высших и низших организмов. Особое внимание он уделил работе микроорганизмов в подготовке минерального питания растений и выработке микробами дополнительных факторов роста. Им были проанализированы с точки зрения микробиолога техника внесения минеральных, органо-минеральных и бактериальных удобрений, приемы обработки почвы и т. д. В заключение он рассмотрел план работы в области микробиологии научно-исследовательских учреждений Чехословакии.

Д-р М. Станек проанализировал роль почвы в распространении фитопаразитов и рассмотрел ее свойства как среды для обитания вредителей сельскохозяйственных растений. Им была показана возможность использования микробного антагонизма в борьбе с возбудителями болезней растений, а также методы дезинсекции и стерилизации почвы.

Д-р Я. Зейферт осветил состояние раздела микробиологии, изучающей лесные почвы. Им было показано значение исследований микробиологов при решении ряда таких лесохозяйственных вопросов, как метод рубки, возобновления леса и т. д.

Основное содержание частных докладов мы излагаем, группируя их по темам и отмечая лишь наиболее существенные части их текста.

Группа докладов (проф. Э. Баудиша, проф. В. Каш, М. Амброжевой и И. Балцар) касалась оценки почв и различных агромероприятий с точки зрения микробиолога.

И. Балцар в своем сообщении дал анализ физических свойств почв, занимаемых культурой табака. Изучив более 500 образцов почв табачных районов, он пришел к выводу о плохом состоянии их структуры. До 97% почв оказались сильно распыленными и обладающими неудовлетворительными, с точки зрения их структуры, свойствами. Исходя из представлений микробиологического порядка, автор рассмотрел систему мероприятий, могущую улучшить физические свойства почвы.

Проф. В. Каш затронул вопрос о межрядной культуре сельскохозяйственных растений в виноградниках. Целью работы является обогащение почвы органическим веществом, азотом, борьба с утомлением и эрозией почв. Исследования только что начаты и рассчитаны на ряд лет.

Присланный на конференцию доклад проф. Э. Баудиша (докладчик был болен) посвящен явлению почвенного утомления. Он построен на анализе существующего литературного материала и в основном базировался на представлениях фитопатологов. Проф. Баудиш проанализировал явление почвоутомления под сахарной свеклой, виноградом, клевером и другими культурами. В докладе отмечены и возможные подходы для борьбы с отмеченным явлением.

В докладе М. Амброжевой был рассмотрен вопрос о влиянии орошения на состояние почвенной микрофлоры. На основании лабораторных и полевых опытов автор пришел к выводу, что оптимальной влажностью для микробов является 75% от полной влагоемости. Большое увлажнение подавляет микробиологические процессы в почве. Дождевание особенно сказывается на состоянии поверхностного слоя почвы, обычно испытывающего дефицит увлажнения.

По разделу «Севооборот, растение и почвенная микрофлора» сделали сообщения пять исследователей (К. Ржидкий, Я. Машка, М. Вагнер, Я. Козова и проф. В. Смолик). Объектом наблюдения в основном являлись отдельные растения, используемые в травопольной системе сельского хозяйства. Ставилось целью установить влияние корневой системы растений на состав почвенной микрофлоры. В большинстве случаев наблюдения имели динамический характер, причем нередко микрофлора почвы изучалась в течение не только вегетационного периода, но и полного календарного года.

Из проделанной работы следует, что растения сильно увеличивают биогенность почвенного слоя и создают специфическую зону вокруг своего корня. Могут быть установлены известные особенности во влиянии отдельных растений на состав почвенных микроорганизмов. Эти отличия, однако, в основном касаются количественных показателей. В сообщенных докладах не содержалось материалов, убедительно показывающих, что те или иные растения вызывают размножение в почве каких-то особых групп или видов микроорганизмов.

Указывалось, что отдельные фазы развития растений, существенно изменяя экзоосмос органических веществ в почве, заметно влияли и на состав микрофлоры прикорневой системы. Заслуживает внимания работа К. Ржидкого по динамике в ризосфере группы микроорганизмов, разрушающих пектин и, очевидно, принимающих ближайшее участие в создании почвенной структуры.

В докладе проф. В. Смолика анализировалось влияние травостоя на некоторые физические свойства почвы. Опыты проводились на фонах, занятых чистыми посевами трав и травосмесями в течение разных периодов времени (от 5 до 47 лет).

Исследование установило, что под пластом трав значительно увеличивается запас органического вещества почвы, улучшается структура почвы и ряд агрономически ценных показателей физических свойств почвы (водопроницаемость, склонность к образованию корки и т. д.).

Всего лишь два доклада (проф. А. Кроулика и К. Кубисты, а также И. Брды) были связаны с вопросами удобрений.

В докладе проф. А. Кроулика и К. Кубисты рассматривался вопрос об использовании испражнений свиней в сельском хозяйстве. Поднятый вопрос актуален для хозяйства Чехословакии. Сейчас созданы большие свинооткормочные пункты, и на них получаются огромные количества фекалий. Последние плохо транспортабельны, и в натуральном состоянии их крайне трудно вносить в почву. Надо отметить, что обычно для свиней не дается соломенной подстилки.

Авторы работы занимались подборкой твердого материала для приготовления из свиных фекалий удобрительных компостов. Были использованы соломенная резка, торф, опилки и другие материалы. Приготовлявшиеся компосты подвергались подробному изучению в процессе их созревания.

Проведенная работа позволила дать ряд указаний для практики.

И. Брда поставил себе целью разработать приемы компостирования навоза для получения органического удобрения с формами азота различной степени закрепленности. Подобные компосты, постепенно отдавая азот, могут равномерно подкармливать посев в течение всего вегетационного периода. При проведении работы готовились органоминеральные удобрения, составленные из навоза, минеральных туков и отходов металлургического производства.

Широкие производственные опыты показали, что изготовленные компосты более эффективны, чем обычный созревший навоз. Часть приготовленных удобрений с успехом была применена в гранулированной форме.

Несколько докладов было посвящено вопросу борьбы с фитопаразитами. М. Драховская-Шиманова, касаясь борьбы с вредителями сахарной свеклы, указала, что источником инфекции может служить как посевной материал, так и почва. При проявлении заболеваний большое значение имеет состояние почвы (температура, влажность и т. д.). Протравливание семян не всегда спасает урожай от повреждения. Необходимо использовать приемы обезвреживания почвы. Последние не должны угнетать микрофлору почвы, вызывающую мобилизацию питательных веществ.

В. Новак и Г. Дворжакова установили, что обогащенные культуры азотобактера подавляют ряд грибов фитопаразитов (Venturia inaequalis, Sclerotinia fructicola, Rhizoctonia solani и т. д.). В чистой культуре азотобактер не обладает антагонистическими свойствами к данным микроорганизмам. Поэтому следует думать, что основную роль в описанном явлении играют спутники азотобактера.

М. Станек и К. Ржидки провели работу по изучению действия денитроортокрезола на почвенную микрофлору. Оказалось, что этот препарат более всего подавляет почвенные грибы. Почвенная микрофлора, однако, постепенно его разлагает, и поэтому токсический эффект оказывается временным. Более продолжительно депримирующее действие сохраняется на песчаных подзолистых почвах.

В другом сообщении М. Станек коснулся вопроса о действии на почвенную микрофлору гексохлорана. Установлено, что небольшие дозы гексохлорана стимулируют размножение почвенных микроорганизмов, а большие — подавляют. Дозировка 50 кг/га ускоряет распад клетчатки, а доза в 400 кг/га усиливает размножение азотобактера. При дозе до 400 кг/га лучше формируются клубеньки у люцерны.

Опыты показали, что одновременное применение гексохлорана и азотобактера для картофеля, высаживаемого на участках, зараженных возбудителем рака, дает хороший эффект. Урожай повышается на 130—140% по сравнению с контролем. Однако на дезинфицированных участках все же отмечается некоторое повышение инфекции картофеля грибом Synchitrium endobioticum.

Доклад В. Челедовой с сотрудниками касался санитарной микробиологии почвы. Этот доклад носил наименование: «О задачах санитарного изучения почвы». В нем разбиралась категория случаев, когда необходимо бывает прибегать к санитарному изучению почвы, а также были разобраны показатели, могущие свидетельствовать об ее загрязнении. Отмечается, что наиболее чуткими индикаторами являются микроорганизмы. Вполне целесообразно использовать также некоторые химические методы исследования почвы (определение хлора, нитратов и т. д.). Вместе с тем указывается, что «санитарное число», рекомендованное как санитарный показатель Хлебниковым, дает значительно менее точные указания о загрязнении почвы.

Указывается, что в городских почвах обычно содержится довольно высокое число термофильных микроорганизмов. Это дает основание думать, что они заносятся в почву не только с навозом. Очевидно, их содержат также отбросы домашнего хозяйства.

В народном хозяйстве Чехословакии большое значение имеет лес. Не удивительно поэтому, что на конференции ряд докладов (общим числом 7) был посвящен микрофлоре лесных почв.

Проф. И. Пелишек остановился на задачах лесной микробиологии. Он отметил значение микроорганизмов в генезисе лесных почв и, в частности, в создании специфического для них перегноя. Он считает, что изучение микробиологических процессов в лесных почвах должно привести к созданию научно обоснованных инструкций для регулирования и повышения производительной способности лесных почв.

З. Амброш доложил о предварительных результатах исследований круговорота азота и углерода в различных лесных почвах (рендзинах, буроземах под еловыми и дубовыми насаждениями и т. д.). Ход процессов минерализации различных компонентов растительных остатков и мобилизация азота выяснились на фоне анализа поведения весьма многочисленных групп микроорганизмов, принадлежащих к разным систематическим и физиологическим группам. Все исследования носили динамический характер и продолжались в течение вегетационного периода.

Подводя итоги, автор указывает микробные группировки, характерные для отдельных почвенных типов. В частности, он отмечает, что число спорообразующих бактерий возрастает с бонитетом насаждения.

Группы микробиологов (Д. Бартлова, В. Коздеркова и Е. Венцлоков-Бамбасова) изучали изменения почвенной микрофлоры под разными лесонасаждениями, развивающимися в котловинах.

Я. Бернат и В. Навотная исследовали влияние осветительной рубки на гумификацию и минерализацию растительных остатков. Они отмечают, что под сомкнутым лесонасаждением начинается процесс оподзоливания. Его можно предупредить, а следовательно, улучшить свойства почвы, обеспечив развитие травянистой растительности под пологом леса. Авторы указывают, что под осветленным насаждением они наблюдали повышение содержания в почве углерода и азота, а также улучшение их соотношения. Это сопровождалось уменьшением числа грибов и увеличением численности бактериального населения. Остается нерешенным вопрос, какая плотность леса нужна для того, чтобы обеспечить оптимальные лесорастительные условия.

В другом сообщении И. Берната был дан ряд интересных сведений о микрофлоре почв хвойных лесов. Посадка ели на лугах посреди буко-грабового леса приводит к резкому изменению состава микрофлоры. В частности, сильно возрастает удельный вес грибов, особенно из рода Penicillium. Изменение микробных ассоциаций приводит и к заметному сдвигу почвообразовательного процесса под покровом хвойного леса.

А. Соботка выделены чистые культуры ряда грибов микоризообразователей. Предполагается их использовать для искусственной инокуляции посевов лесных пород.

Значительное внимание на совещании было уделено биологической фиксации молекулярного азота. Этому вопросу были посвящены доклады Я. Мацуры, Б. Носека и Г. Дворжаковой.

Я. Мацура в своем докладе указал, что существенное влияние на интенсивность обмена веществ у азотобактера оказывает наличие в среде коллоидных веществ. На связывание атмосферного азота это, однако, значительно не влияет. Далее автор коснулся вопроса о взаимоотношении азотобактера с другими почвенными микроорганизмами. Выявлено, что некоторые бактерии-спутники усиливали его рост и биохимическую активность, другие же подавляли.

Автор подчеркивает то, что в почве взаимоотношение у микроорганизмов складывается иначе, чем в условиях питательной среды.

Б. Новак и Г. Дворжакова изучили вопрос о связывании атмосферного азота актиномицетами. Удалось доказать, что некоторые представители данной группы могут фиксировать N_2. Данный процесс усиливается при аэрации инокулированной среды, лишенной следов связанного азота. Используемая изученными актиномицетами глюкоза не окисляется полностью и частично превращается в органические кислоты.

В стерильной почве процесс идет интенсивнее, чем в жидкой питательной среде. Не исключается возможность, что актиномицеты — фиксаторы азота играют значительную роль в обогащении почвы этим элементом.

Жизнедеятельность азотобактера в ризосфере сельскохозяйственных растений была изучена проф. В. Каш и И. Жак, а также Я. Ласик.

В сообщении В. Каш и Я. Ласик указывалось на то, что в зоне корня азотобактер существует не в чистой культуре, а в окружении определенного микробного ценоза. Имеющиеся данные позволяют думать, что Pseudomonas играет защитную роль, парализуя некоторых антагонистов азотобактера. В качестве последних выступают Bac. mycoides и Bac. mesentericus. Вообще представляет интерес то, что в смешанных культурах азотобактер интенсивнее фиксирует азот, чем в чистых культурах.

В зоне корня сахарной свеклы и овса азотобактер может развиваться вполне хорошо. Обычные нормы азотных удобрений не создают обстановки, приводящей к подавлению роста этого фиксатора молекулярного азота.

Я. Ласик, изучая ризосферу ряда травянистых растений — люцерны, клевера, райграса, мятлика и т. д., пришел к выводу, что у каждого растения в ризосфере размножаются специфические культуры азотобактера. Они отличаются между собой по форме колоний, пигментации, интенсивности роста и т. д.

Автор считает целесообразным для целей бактеризации использовать специфические расы азотобактера.

Опыты по бактеризации посевов сельскохозяйственных культур в Чехословакии ставили многие микробиологи. Так, Е. Станькова-Опоченская бактеризовала посевы кукурузы. Она отмечает, что скороспелые сорта кукурузы хуже отзываются на бактери-

зацию, чем поздние. Большую роль в эффективности действия азотогена играет тип почвы. Наиболее эффективен азотоген на буроземах.

Я. Мацура сообщил о результатах опытов по изучению влияния азотобактера на сахарную свеклу. Азотобактер усиливает прорастание семян свеклы и в большинстве случаев (в 8 случаях из 10) повышает ее урожайность на 1—57 ц с гектара. Химический анализ показал, что бактеризация повышает сахаристость сахарной свеклы, но одновременно увеличивает несколько содержание вредного азота.

Я. Жак провел ориентировочные опыты бактеризации посевов овса азотобактером. Опыт проводился на почве, бедной азотобактером. Азотфиксирующий микроорганизм вносился с бактеризованным посевным материалом, а также вместе с гранулированными органо-минеральными удобрениями. Внесенный в почву микроб прижился. Положительное действие бактеризации проявилось в повышении урожайности на 27%.

Небольшое число сообщений касалось вопроса о роли микробиологического фактора в превращении фосфора и калия в почве.

И. Фиалкова изучила распространение бактерий, минерализующих органические соединения фосфора в ризосфере ряда сельскохозяйственных растений. Выделение данных организмов производилось на среде, содержащей чистый лицетин, путем метода разливок. Было найдено, что данная группа микроорганизмов весьма богато представлена в ризосфере ряда растений — кукурузы, ячменя и картофеля. На 1 г ризосферной почвы приходится от одного до нескольких миллионов клеток этих микробов.

Г. Чапкова повторила исследование, проведенное Александровым и Заком в СССР. Ею были выделены бактерии, могущие ассимилировать калий из кислотонерастворимых соединений (силикатов). Усвоение калия могло происходить в питательных средах, имеющих нейтральную реакцию среды. В раствор переходило около 7 мг K_2O из 0,5 г силиката, внесенных в среду.

Отмечается, что бактерии, усваивающие калий силикатов, способны также ассимилировать газообразный азот.

В докладе Л. Павла, И. Колоушек и В. Шматлак «Аминокислоты в продуктах гидролиза гуминовой кислоты некоторых генетических почвенных типов» сообщалось, что при помощи бумажной хроматографии была сделана попытка найти различия в составе перегноя разных образцов почв. В гидролизатах обнаружены следующие аминокислоты — цистеиновая, аспарагиновая, глутаровая, дегидрооксифенилаланин, серин, глицин, лизин, аргинин, лейцин, тирозин и другие соединения.

Установлено, что сера (может быть отчасти) в почвенном перегное содержится в цистеине и метионине.

Качественного различия в составе аминокислот гуминовых соединений различного происхождения не было обнаружено.

Значительное внимание на конференции было уделено зоологическим вопросам. Старейший почвовед Чехословакии проф. В. Новак сделал доклад на тему: «Значение комплексного исследования эдафона в сельском хозяйстве», в котором остановился на задачах изучения почвенных животных как фактора почвообразования, подчеркивая значение почвенных животных для круговорота веществ в почве, и ставил перед биологами задачу не только исследования почвенной фауны, но и активной ее перестройки.

Доклад Я. Носека был посвящен конкретным итогам изучения количества и вертикального распределения основных групп почвенных немикроскопических животных в буково-пихтовых и горных еловых лесах в Моравских Бескидах в сравнении с луговыми и пахотными землями. Как и по данным, полученным в СССР, этот исследователь констатировал большую численность и разнообразие почвенного населения под лесом, а в пределах пахотных земель — положительную связь численности почвенных беспозвоночных со степенью удобренности почвы.

Доклад об интересном разделе почвенно-зоологических исследований сделал д-р К. Роса, исследовавший почвенную микрофауну и флору водорослей в горном девственном лесу на Прадеде на высоте 1050—1200 м над уровнем моря. Этот исследователь изучал коловраток и других простейших почвы, их численность и характер питания, выяснив, что почвенные Thecamoebae питаются главным образом бактериями, как и почвенные Ciliata. Д-р К. Роса считает наиболее приемлемым методом для исследования этих групп метод прямой микроскопии небольших проб почвы.

На заключительном заседании конференции были сделаны доклады: Е. Н. Мишустиным «Микроорганизмы и плодородие почвы» и М. С. Гиляровым на тему «Почвенная фауна и плодородие почвы».

Участниками конференции была принята резолюция, в которой отмечено состояние изучения почвенной биологии; признается несомненный рост кадров, имеющий место за последнее время, и более глубокое содержание работ, развернувшихся за последнее время.

В резолюции подчеркивается, что биологи Чехословакии основывают свою работу на принципах передовой советской науки, приветствуется приезд на конференцию советских ученых. Наконец, в резолюции намечаются пути и мероприятия, могущие существенно улучшить работу в области биологии почвы.

Е. Н. Мишустин

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные статьи

А. А. Имшенецкий и Е. Л. Рубан. Бесклеточная нитрификация. II. Окисление аммиака автолизатами клеток Nitrosomonas 393
Н. М. Митюшова. О газообмене уксуснокислых бактерий при окислении сорбита в сорбозу 400
Л. Г. Логинова и М. М. Василевская. Скорость размножения термофильных дрожжей, полученных экспериментально 410
А. М. Скородумова. Антибиотические свойства дрожжей, сбраживающих углеводы 419
Н. И. Сербинова и Е. В. Сокольская. Бактериофагия у молочнокислых палочек типа Lactobacterium plantarum 424
М. В. Федоров и В. Ф. Непомилуев. Основные формы ризосферных бактерий клевера и их количественное содержание в ризосфере по фазам развития растения и годам его жизни 431
Г. Н. Блинков. Содержание белков в различных штаммах Azotobacter chroococcum из почв Сибири 438
Ж. Войнова-Райкова. Распространение азотобактера в почвах Болгарии 441
И. А. Геллер и Ф. Б. Юспе. О влиянии минеральных удобрений на микробиологические процессы почвы 451
В. Д. Манзон и А. В. Дзецина. Диагностика состояния активности почвенной микрофлоры 455
М. Е. Гамбарян. Распределение, численность и биомасса бактерий Севанской бухты 462
Ц. И. Роговская. Влияние лактама амино-капроновой кислоты на водные микроорганизмы и биохимические процессы самоочищения воды 464
А. И. Улендеев. О количестве ацидофильных бактерий в кишечнике лошадей 474
О. И. Швецова. Желтуха дубового шелкопряда и способы ликвидации ее в промышленных выкормках 477

Дискуссия

М. М. Кононова. Некоторые дискуссионные вопросы в области почвенной микробиологии 485

История отечественной науки

И. Л. Работнова. Материалы по истории технической микробиологии. Микробиология в пивоварении 493

Критика и библиография

А. А. Имшенецкий.— В. Лилли и Г. Барнетт. Физиология грибов 498
Библиография 503

Хроника

Е. Н. Мишустин. Конференция по микробиологии почвы в Чехословакии . . 516

Т-03503. Подписано к печати 21/VII 1954 г. Печ. лист. 10,96+1 вклейка
Уч.-изд. л. 13,5. Формат бумаги 70×108 1/16. Бум. л. 4. Тираж 6050 экз. Зак. 415

2-я типография Издательства Академии наук СССР. Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.

В соответствии с решением Президиума АН СССР создан новый научный журнал „Физиология растений", периодичностью в 6 номеров в год, объемом в 6 печатных листов каждый. В текущем году выйдут 2 номера. Журнал публикует оригинальные экспериментальные работы по различным вопросам физиологии растений. Объем статьи не должен превышать 12—15 страниц машинописного текста через 2 интервала. Материал просьба направлять по адресу: Москва, Б. Калужская 33, Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева АН СССР.